

„Die Auswirkung einer dreiwöchigen
Extremitätenimmobilisation
auf die Muskulatur und deren Gefäßver-
sorgung und die Möglichkeit einer Prävention
der Schädigung durch eine gleichzeitig
erfolgende Elektrotherapie“

Untersuchungen am „roten“ m. soleus der Ratte

Franz Stechele

1982

Aus der
Klinik für Physikalische Medizin
der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. med. H. Drexel

" Die Auswirkung einer dreiwöchigen Extremitätenimmobilisation
auf die Muskulatur und deren Gefäßversorgung
und die Möglichkeit einer Prävention der Schädigung durch
eine gleichzeitig erfolgende Elektrotherapie "

Untersuchungen am "roten" m.soleus der Ratte

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Franz Stechele
aus Penzing

1982

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter : Prof. Dr. med. W. Schnizer
Mitberichterstatter : Prof. Dr. med. H. Drexel
Dekan : Prof. Dr. med. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung : 2.12.1982



Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	1
2.	Methodik	
2.1.	Tierexperimentelle Durchführung	2
2.1.1.	Einteilung in die verschiedenen Versuchsgruppen	2
2.1.2.	Praktische Durchführung der Immobilisation	3
2.1.3.	Praktische Durchführung der Elektrophotherapie	4
2.2.	Präparation des musculus soleus	12
2.3.	Konservierung des Muskelpräparats	15
2.4.	Histochemisches Verfahren	17
2.4.1.	Herstellung von Objektträgern mit Gewebeschnitten	17
2.4.2.	Darstellung der verschiedenen Fasertypen und der Kapillaren in den Muskelquerschnitten	18
2.4.2.1.	Färbung zur Faserdifferenzierung	20
2.4.2.2.	Färbung zur Kapillardarstellung	24
2.4.2.3.	Vorversuche	26
2.5.	Auswertung der gefärbten Muskelpräparate	28
2.5.1.	Herstellen von Photographien	29
2.5.2.	Kapillarenzählung	29
2.5.3.	Histometrie (Myometrie)	30
2.6.	Statistische Auswertung	32
2.6.1.	Statistische Merkmale der Zahlengruppen	32
2.6.2.	Berechnung der Signifikanz	32
3.	Ergebnisse	34
3.1.	Tiergewicht	34
3.2.	Muskelgewicht	35
3.2.1.	Ausmaß der Atrophie	36
3.2.2.	Einfluß der Schwellstromtherapie	36
3.2.3.	Einfluß der Therapie mit galvanischem Strom	37
3.2.4.	Statistik	38
3.2.5.	Graphische Darstellung	39
3.3.	Muskelfaserdurchmesser	40
3.3.1.	Ausmaß der Atrophie	41
3.3.2.	Einfluß der Schwellstromtherapie	42
3.3.3.	Einfluß der Therapie mit galvanischem Strom	43
3.3.4.	Zusammenfassung der Teilergebnisse	44

3.3.5.	Statistik	45
3.3.5.1.	Fasertyp I	45
3.3.5.2.	Fasertyp II	46
3.3.6.	Graphische Darstellung	47
3.3.7.	Summenhistogramme	48
3.4.	Muskelfaserrelation	56
3.4.1.	Auswirkung der Immobilisation	57
3.4.2.	Einfluß der Schwellstromtherapie	57
3.4.3.	Einfluß der Therapie mit galvanischem Strom	58
3.4.4.	Zusammenfassung der Teilergebnisse	58
3.4.5.	Statistik	59
3.4.6.	Graphische Darstellung	60
3.5.	Kapillarisierung	61
3.5.1.	Auswirkung der Immobilisation	62
3.5.2.	Einfluß der Schwellstromtherapie	62
3.5.3.	Einfluß der Therapie mit galvanischem Strom	63
3.5.4.	Zusammenfassung der Teilergebnisse	64
3.5.5.	Statistik	65
3.5.6..	Graphische Darstellung	66
3.6.	Kapillardichte	67
3.6.1.	Auswirkung der Immobilisation	68
3.6.2.	Einfluß der Schwellstromtherapie	68
3.6.3.	Einfluß der Therapie mit galvanischem Strom	69
3.6.4.	Zusammenfassung der Teilergebnisse	70
3.6.5.	Statistik	71
3.6.6.	Graphische Darstellung	72
4.	Diskussion	73
5.	Zusammenfassung	90
6.	Anhang	93
6.1.	Einzeldaten der Tiere	93
6.1.1.	Muskelgewicht	93
6.1.2.	Muskelfaserdurchmesser	94
6.1.3.	Muskelfaserrelation	96
6.1.4.	Kapillarisierung	98
6.1.5.	Kapillardichte	98

7.	Literaturübersicht	102
8.	Danksagung	109
9.	Lebenslauf	110

1. Einleitung

An den Extremitäten müssen aus vielerlei Gründen immobilisierende Verbände angelegt werden, um die Ruhigstellung zu garantieren, die zur raschen Ausheilung von Verletzungen oder chirurgischen Eingriffen notwendig ist.

Zur Behandlung der durch Extremitätenimmobilisation verursachten Atrophie und Blutzirkulationsstörungen der Muskulatur werden seit vielen Jahren vor allem krankengymnastische Maßnahmen und die transkutane Applikation von elektrischen Reizströmen eingesetzt. Diese physikalischen Therapieformen werden meist erst nach Beendigung der Immobilisation, z.B. Entfernung eines Gipsverbandes, angewandt.

In der vorliegenden Arbeit wird in tierexperimentellen Versuchen der Frage nachgegangen, ob der durch die Immobilisation ausgelöste schädigende Einfluß auf die Muskulatur durch eine gleichzeitige Elektrotherapie aufgehoben, bzw. verringert werden kann.

Es kamen zwei Arten der Reizstromtherapie zur Anwendung, Gleichstromtherapie und niederfrequente Schwellstromtherapie (30 Hz).

2. Methodik

2.1. Tierexperimentelle Durchführung

Die Versuche wurden an 69 männlichen Ratten des Stammes Wistar vorgenommen. Die Tiere waren zu Versuchsbeginn circa zwei Monate alt und wogen durchschnittlich 190 Gramm. Sie rekrutierten sich aus insgesamt 7 Würfen, die jeweils gleichmäßig auf die verschiedenen Versuchsgruppen verteilt wurden. Nach Ablauf des dreiwöchigen Versuchsprogramms wurden bei allen Tieren beide musculi solei entnommen und hinsichtlich ihres Gewichts, ihrer Fasergröße, -verteilung, Kapillarisierung und Kapillardichte untersucht.

2.1.1. Einteilung in die verschiedenen Versuchsgruppen

Die Tiere wurden in 4 Gruppen eingeteilt:

Gruppe I : Immobilisation und gleichzeitige Schwellstrombehandlung der rechten hinteren Extremität bei 21 Tieren

Gruppe II : Immobilisation und gleichzeitige Therapie mit galvanischem Strom der rechten hinteren Extremität bei 19 Tieren

Gruppe III : Immobilisation der rechten hinteren Extremität, jedoch keine Elektrotherapie bei 15 Tieren

Gruppe IV : Keinerlei Manipulation (weder Immobilisation, noch Elektrotherapie) bei 14 Tieren

2.1.2. Praktische Durchführung der Immobilisation

Verschiedene Möglichkeiten der Immobilisation von Rattenextremitäten zur Erzeugung einer signifikanten Inaktivitätsatrophie sind beschrieben worden(4,11,40). Für die vorliegenden Untersuchungen wurde ein einfaches, leicht reproduzierbares Verfahren entwickelt. Hierbei wurde den Tieren in der Art eines Unterschenkelgipses eine Kunststoffschiene angelegt, die eine weitgehend freie Beweglichkeit des Kniegelenkes zuließ, das Sprunggelenk aber in leichter Plantarflexion fixierte. Dadurch konnte eine starke Inaktivierung des musculus soleus erreicht werden. Der verwendete Kunststoff war so beschaffen, daß er sich in warmem Wasser leicht formen ließ und so den Erfordernissen entsprechend angepaßt werden konnte (Abb.1).

Kunststoffplatte trapezförmig ausschneiden

Mit den Händen eine Schiene formen

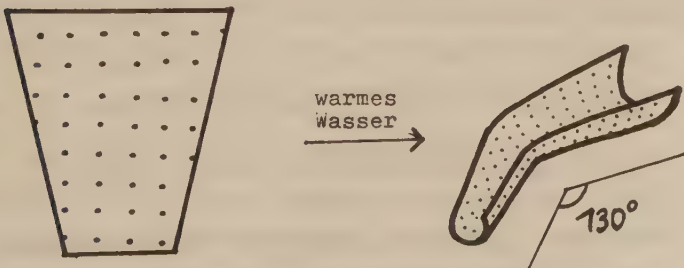


Abb. 1 : Herstellung der Kunststoffschiene

Die Schiene wurde beim Anlegen an das Bein mit Watte gepolstert, um eventuellen Zirkulationsstörungen und daraus resultierenden Gewebeschädigungen vorzubeugen. Anschließend wurde sie mit zirkulär geklebten Leukoplaststreifen am Unterschenkel fixiert.

In Vorversuchen war festgestellt worden, daß diese Art des Vorgehens alleine unzureichend war, da ein Großteil der Tiere die weiche Leukoplastschicht bereits innerhalb weniger Stunden derart angenagt hatten, daß eine ausreichende Fixation des Gelenkes nicht mehr gewährleistet war.

Dieses Problem wurde durch zusätzliches Aufbringen von stabilem Gewebeband gelöst. Dadurch waren die Tiere nicht mehr in der Lage eine suffiziente Immobilisierung zu gefährden.

Die Qualität jedes einzelnen Verbandes wurde täglich überprüft und eventuelle Beschädigungen korrigiert. Dieser Verband wog konstant 12 Gramm, ein Betrag, der etwa 6 % des Tiergewichts darstellt. So konnte ein Verhältnis Körpergewicht/"Gipsgewicht" erreicht werden, das in etwa den Gegebenheiten in der Humanmedizin entspricht.

2.1.3. Praktische Durchführung der Elektrotherapie

Es kamen 2 Arten der Reizstromtherapie zur Anwendung: Gleichstromtherapie und niederfrequente Schwellstromtherapie (30 Hz).

Diese beiden Therapieformen haben heute eine bedeu-

tende Stellung innerhalb der physikalischen Medizin. So ist die niederfrequente Schwellstromtherapie vor allem bei Inaktivitätsatrophien indiziert, während die Gleichstromtherapie (Galvanisation) hauptsächlich bei peripheren Durchblutungsstörungen arteriosklerotischer Genese Anwendung findet. Manche Autoren beschreiben Steigerungen der Durchblutungsgrößen bis zu 300 % an der Muskulatur (17,42).

In den vorliegenden Versuchen wurden die zwei oben genannten Stromarten mit dem Gerät Neuroton 510 der Firma Siemens erzeugt. Sie sind durch die im folgenden beschriebenen Reizstromparameter charakterisiert.

a) Schwellstrom (Impulsstrom)

Hierbei handelt es sich um eine Stromform, die durch Serien von kurzen Impulsen tetanische Kontraktionen auslöst. Diese Impulsserien sind amplitudenmoduliert, i.e. die Stromstärke der Einzelimpulse steigt kontinuierlich bis zu einem Maximalwert an, um dann wieder abzufallen. In der vorliegenden Untersuchung wurde der Maximalwert der Stromstärke (Spitzenstromstärke) mit 1 mA so gewählt, daß Muskelkontraktionen am behandelten Unterschenkel beobachtet werden konnten, die Tiere aber keine Schmerzäußerungen zeigten.

Die dabei benutzte Impulsdauer wurde wegen der leichten Ansprechbarkeit von Muskeln, die normal innerviert werden, mit 1 ms relativ kurz gewählt.

Die Zeit zwischen zwei Einzelimpulsen (Impulsdauer) betrug 32 ms (Abb. 2a).

Aus diesen beiden Werten ergibt sich eine Reizstromfrequenz von 30 Hz. Eine Impulsreihe (Schwellung) bestehend aus 60 Einzelimpulsen dauerte zwei Sekunden. Die Pause zwischen zwei Schwellungen betrug 4 Sekunden. Hieraus resultiert eine Schwellfrequenz von 10 Schwellungen pro Minute.

Dies bedeutet, daß der musculus soleus sich während der Behandlung 10 mal in einer Minute kontrahierte. (Abb. 2b)

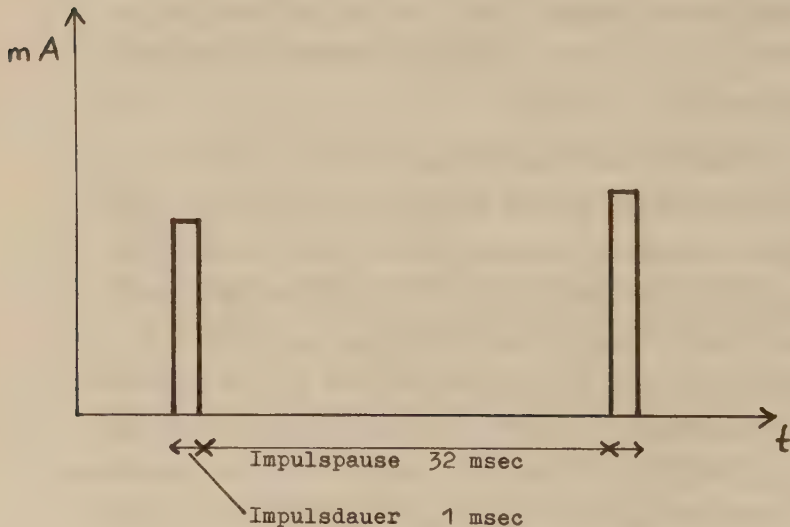


Abb. 2a : Impulsdauer und Impulspause von Einzelimpulsen.

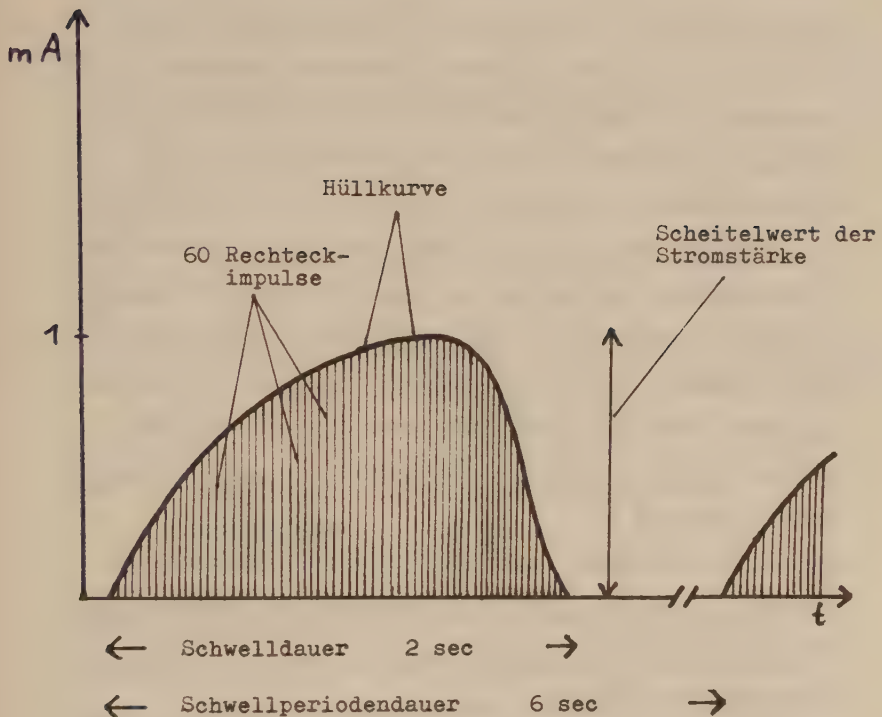


Abb. 2b : Niederfrequenter Schwellstrom

(Darstellung einer Schwellung mit ihren
charakteristischen Parametern)

Behandelt wurde an 6 Tagen in der Woche jeweils für
30 Minuten. Die Therapie erstreckte sich insgesamt
über einen Zeitraum von 3 Wochen.

b) Galvanischer Strom (Gleichstrom)

Als galvanischer Strom wird ein Strom gleicher Stromrichtung und gleichbleibender Intensität definiert (17). Es wurde mit einer Stromstärke von etwa 900 Mikroampere behandelt, ein Wert, der von den Tieren gerade ohne Schmerzáußerungen toleriert wurde. Dabei war unbedingt darauf zu achten, daß die Einregulierung der benötigten Stromintensität am Beginn der Behandlung einschleichend erfolgte. Deshalb wurde die erforderliche Stromstärke erst langsam im Laufe einer Minute erreicht. Ebenso war am Therapieende die Stromintensität nicht abrupt auf Null zu stellen, sondern mußte ausschleichend verringert werden (Abb. 3).

Bei Mißachten dieser Maßregeln, also zu schnellem Ausschalten, bzw. zu schnellem Einschalten des Stromes kann es zu schmerzhaften Stromöffnungs-, bzw. Stromschliessungszuckungen kommen.

Die Behandlungsdauer und der Gesamtbehandlungszeitraum wurden genauso wie bei der Schwellstromtherapie gewählt (30 min./Tag ; 6 Tage/Woche ; 3 Wochen insgesamt).

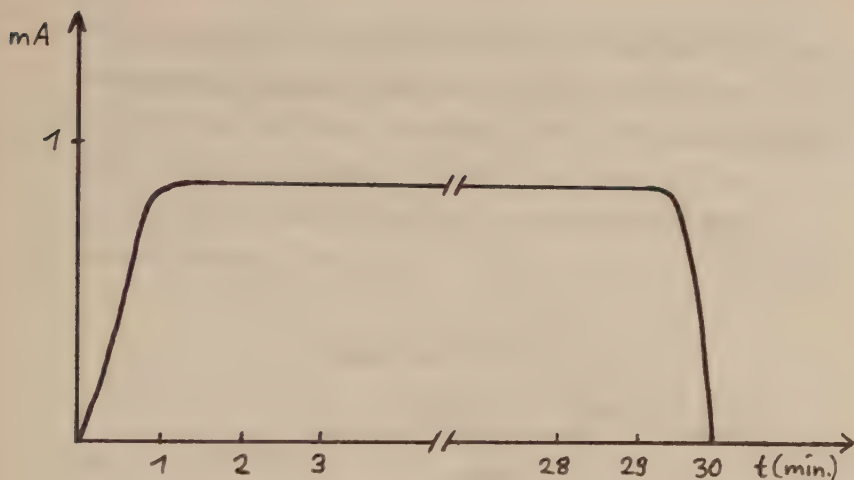


Abb. 3 : Zeitlicher Verlauf einer Behandlung mit
Gleichstrom

Die Stromapplikation mit den herkömmlichen Platten-
elektroden wie sie aus der Humanmedizin bekannt sind,
erwies sich bei den Experimenten mit Ratten äußerst
schwierig, da deren Extremitäten zu klein waren.
Deshalb wurde bei den vorliegenden Versuchen der
Therapiestrom von den Kabelklemmen direkt über Vis-
koseschwämmchen auf das Rattenbein vermittelt.
Diese Schwämmchen hatten eine normierte Größe von
1,0 cm Breite, 0,8 cm Dicke und 10 cm Länge. Sie
wurden in warmen Leitungswasser angefeuchtet und
dann unter leichtem Zug jeweils proximal und distal
des Immobilisationsverbandes um die Extremität ge-

legt. Die Schwammstreifen wurden fixiert, indem die beiden überstehenden Enden mit einer Klemme zusammengehalten wurden (Abb. 4).

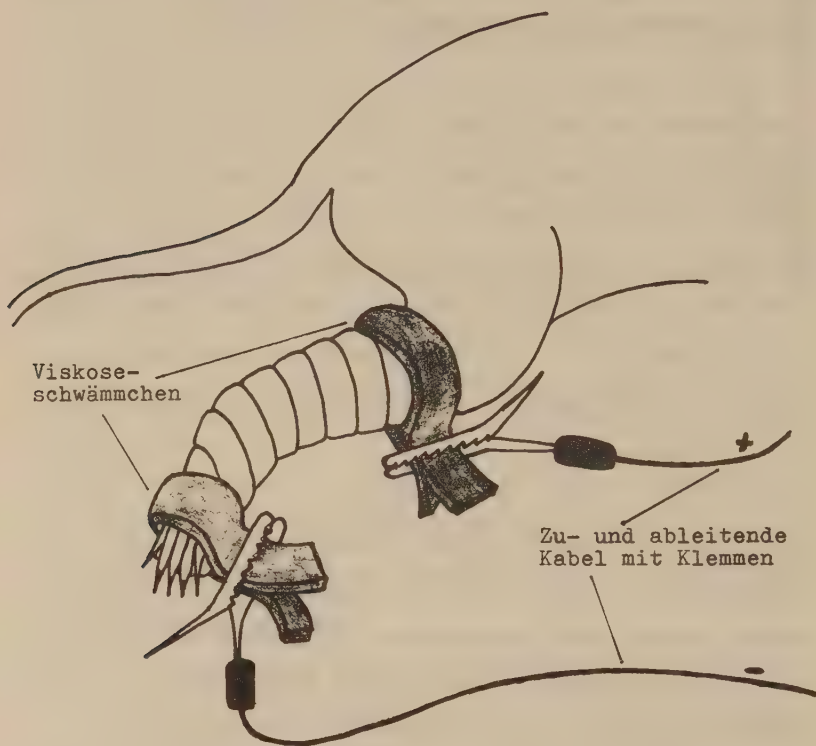


Abb. 4 : Darstellung einer geschienten Rattenextremität, mit Schwämmchen und Klemmen zur Stromapplikation versehen.

Proximal der Schiene war diese mit einem zuleitenden und distal mit einem ableitenden Kabel verbunden. Es wurden immer mehrere Tiere in Serie geschaltet, um sie gleichzeitig behandeln zu können.

Das Therapiegerät verfügte über eine stromkonstante Ausgangsschaltung (Constant Current - Gerät). Dadurch konnte jedem einzelnen Tier, unabhängig von der Anzahl der Tiere im Stromkreis, genau die am Therapiegerät eingestellte Stromintensität verabreicht werden (Abb. 5).

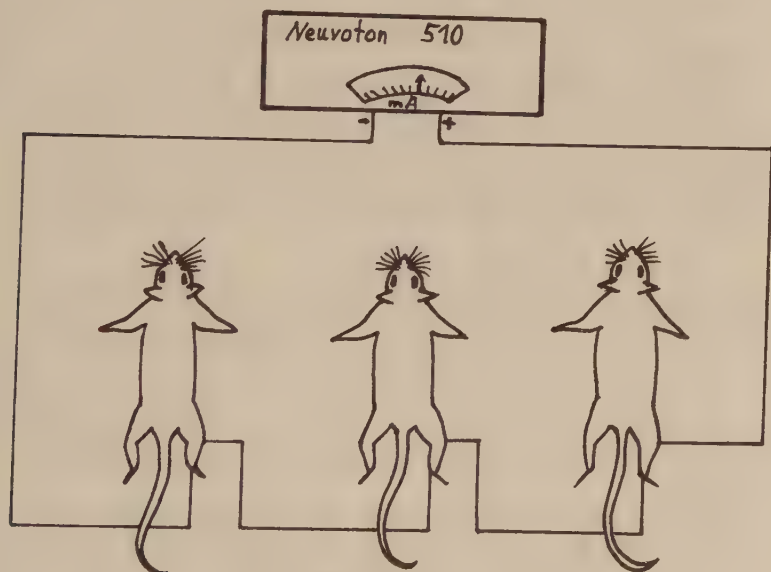


Abb. 5 : Versuchsanordnung, mit der gleichzeitig mehrere Tiere therapiert werden können

Während der Strombehandlung mußten verschiedene Störmöglichkeiten ausgeschaltet werden, um einen korrekten Versuchsablauf zu gewährleisten. Deshalb wurden die Viskoseschwämmchen ständig mit warmen Leitungswasser nachgefeuchtet, die Isolierschicht der Kabel wurde auf evtl. durch Bisse entstandene Schadstellen überprüft und der feste Sitz der Klemmen wurde überwacht.

2.2. Präparation des musculus soleus

Am Ende des dreiwöchigen Versuchsprogrammes mußten die zu untersuchenden musculi solei der rechten und linken hinteren Extremität jeden einzelnen Tieres entnommen werden.

Zu diesem Zweck wurde den Tieren intraperitoneal 0,2 ml Narkotin injiziert. Etwa eine Minute nach der Injektion waren die Tiere vollkommen narkotisiert und wurden mit ihrer Bauchseite auf eine Korkplatte gelegt.

Mit Hilfe von Stecknadeln konnten die 4 Extremitäten in gestreckter Position auf der Unterlage befestigt werden. Das Tier war somit für die anschließende Präparation ausreichend fixiert.

Zunächst wird die Haut mit einer chirurgischen Pinzette von den darunterliegenden Muskeln abgehoben, mit einer kleinen Schere von distal nach proximal eröffnet und schließlich am ganzen Ober- und Unterschenkel entfernt.

Der bedeutenste Beugemuskel des Unterschenkels, der zweiköpfige musculus biceps femoris bedeckt mit seinem caudalen Anteil das proximale Drittel der Wadenmuskulatur. Der craniale Kopf zieht mit einer breiten Basis von dem letzten Kreuz - und dem ersten Schwanzwirbel zur Höhe des Sitzbeinhöckers, wo er sich mit dem caudalen Kopf vereinigt. Von hier aus läuft er nach unten und inseriert am Femur, oberhalb des lateralen Condylus. Der caudale Kopf, der am Sitzbeinhöcker entspringt, ist anfangs schwächer als der vorige, verbreitert sich dann nach unten und inseriert an der proximalen Hälfte

der Tibia (12,37).

Beide Teile des m. biceps femoris werden an ihren Ansatzpunkten durchtrennt und nach oben geklappt.

Den Hauptteil der Wadenmuskulatur liefert der m. gastrocnemius. Er besteht aus zwei Köpfen, von denen der laterale am Condylus lateralis femoris mit einer Sehne an der Patella entspringt. Dagegen entspringt der mediale und stärkere Teil am Condylus medialis femoris.

Beide Teile verschmelzen am proximalen Ende des Unterschenkels und bedecken den m. soleus, mit dem sie im distalen Drittel des Unterschenkels die Achillessehne gemeinsam bilden. Die kräftige Achillessehne inseriert am Tuber calcanei.

Der m. gastrocnemius wird an seinen beiden Ursprungsstellen und an seiner Ansatzstelle abgelöst und in toto entfernt.

Der nun freigelegte m. soleus zeichnet sich optisch besonders durch seine charakteristische intensive Färbung aus. Er entspringt mit einer langen Sehne am Capitulum fibulae und inseriert am Tuber calcanei.

Diese anatomische Position bedingt seine Funktion als Plantarflexor des Fußes (Abb. 6).

Nach Entnahme der beiden musculi solei aus den hinteren Extremitäten wurde das Tier mit einer Letaldosis Narkotin eingeschläfert.

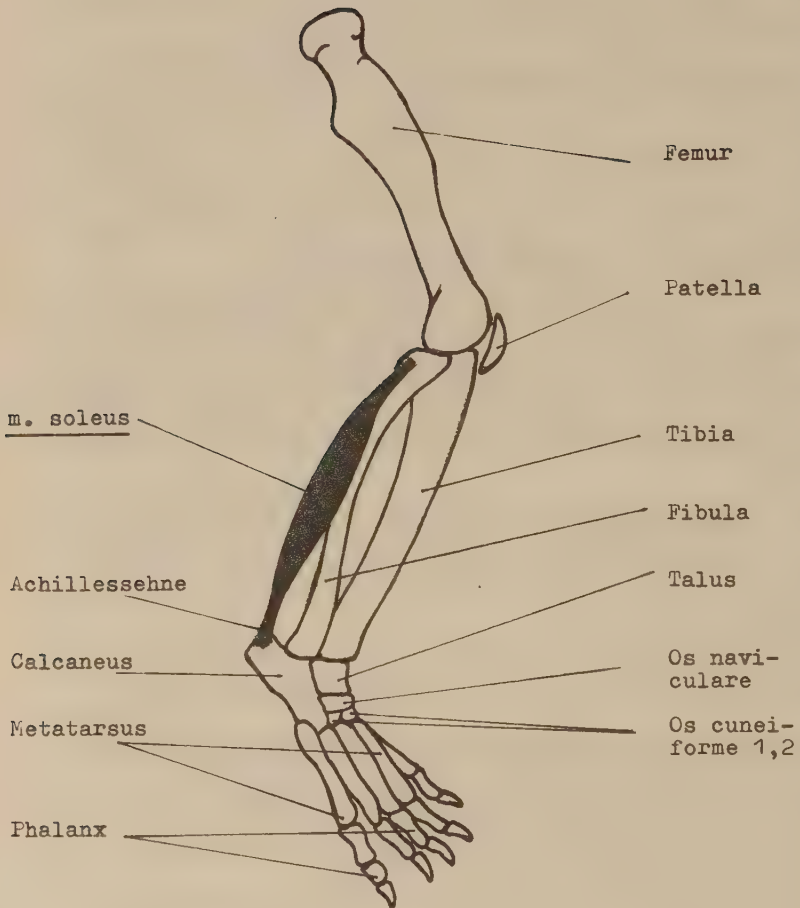


Abb. 6 : Skelet der rechten hinteren Extremität
der Ratte.

Ursprung, Ansatz und Verlauf des m. soleus

2.3. Konservierung des Muskelpräparates

Unmittelbar nach der Präparation wurde der musculus soleus für die zu einem späteren Zeitpunkt erfolgte histochemische Aufarbeitung konserviert. Zu diesem Zweck wurde die Methode der Schnellgefrierung mit flüssigem Stickstoff angewandt (47).

Hierbei mußte der Muskel zunächst proximal des Überganges seines Muskelbauches in die Achillessehne mit einer Schere senkrecht zu seiner Längsachse durchschnitten werden. Mit der so erhaltenen ebenen Grundfläche wurde das Präparat auf ein Korkplättchen aufgesetzt, das zuvor mit einem Gewebekleber ¹⁾ gleichmäßig beschichtet worden war. Der Muskel war nun wie ein aufrechter Zylinder ausgerichtet, wodurch später problemlos mit dem Mikrotom-Schneidegerät exakte Querschnitte hergestellt werden konnten.

Bei der anschließenden Einfrierung war zur Vermeidung von Artefakten vor allem eine schnelle Abkühlung des Muskelpräparats notwendig. Dazu wurde das Präparat mit einer langstieligen Pinzette für zwei Minuten in ein mit 2-Methylbutan gefülltes Gefäß gehalten, das mit Hilfe von flüssigem Stickstoff auf eine Temperatur von minus 193 Grad celsius gebracht wurde (Abb. 7).

¹⁾ Unter Erwärmung 5 gramm Gum-*Tragacanth* in 100 ml *Aqua dest.* verrühren. Aufbewahrung mit einer Spur *Thymol* bei 4 Grad Celsius

Das direkte Einbringen des Präparats in flüssigen Stickstoff ist zum schnellen Abkühlen ungeeignet, da sich auf der ganzen Oberfläche des Muskelgewebes eine feine Stickstoffgasschicht bildet, die dann eine Verlängerung der Einfrierungszeit verursacht. Im Anschluß an die Schnellgefrierung wurde das Präparat sofort in ein verschraubbares Plastikdöschen gegeben, das in flüssigem Stickstoff vorgekühlt worden war. Bis zur weiteren Aufarbeitung wurde das Präparat in einem Gefrierschrank bei einer Temperatur von minus 80 Grad Celsius deponiert. Die Zeit von der Muskelentnahme bis zur Einbringung in 2-Methylbutan sollte 30 Minuten nicht überschreiten(47). In den vorliegenden Untersuchungen wurden dazu nie mehr als 5 Minuten benötigt.

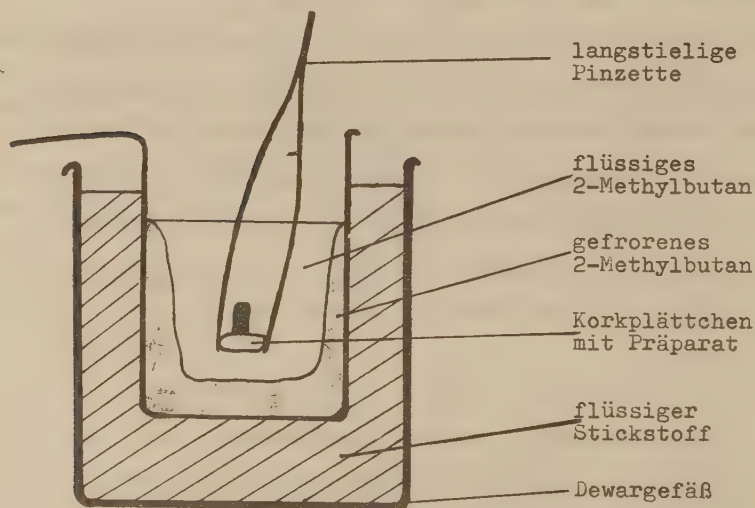


Abb. 7 : Zur Gefrierung wird das Muskelpräparat in ein Becherglas mit abgekühltem 2-Methylbutan gehalten

2.4. Histochemisches Verfahren

2.4.1. Herstellung von Objektträgern mit Gewebeschnitten

Die zur Myometrie (Fasergrößen- und anzahlbestimmung) und Kapillarauswertung benötigten histochemischen Färbungen wurden an Gefrierschnitten vorgenommen.

Im Gegensatz zu Paraffinschnitten, die eine Schrumpfung der Faserdurchmesser bis zu 30 % aufweisen (47), ist hierbei das Muskelgewebe besser erhalten.

Die Gefrierschnitte wurden mit einem Mikrotom, das in einem Kryostat der Fa. American Optical montiert war, angefertigt. Hierzu mußten die Korkplättchen mit dem darauf befindlichen tiefgefrorenen Muskelpräparat zunächst auf einen Metallstempel aufgeblockt werden.

Das Verbindungsmaterial (Tissue Tek II O.C.T. Compound) wurde bei der im Kryostat herrschenden Temperatur von minus 20 Grad Celsius fest und gewährleistete somit eine stabile Befestigung des Korkplättchen auf dem Stempel. Dieser wurde in einer Haltevorrichtung verschraubt, die auf einer Schiene gegen das Schneidmesser (Mikrotom) bewegt werden konnte. Durch Höhenverstellung des Schneidmessers war es möglich verschiedene Schnittdicken (5-25 Mikrometer) zu erhalten. Für die hier vorgenommenen Untersuchungen wurden Schnitte mit 10 Mikrometer Dicke hergestellt. Beim Schneiden schob sich der Gefrierschnitt auf das Messer und wurde von dort mit einem Glasobjektträger aufgenommen (Abb. 8).

Eine einstündige Trocknung bei Raumtemperatur garantierte eine genügende Fixierung des Präparates für die sich anschließende histochemische Färbeprozedur.

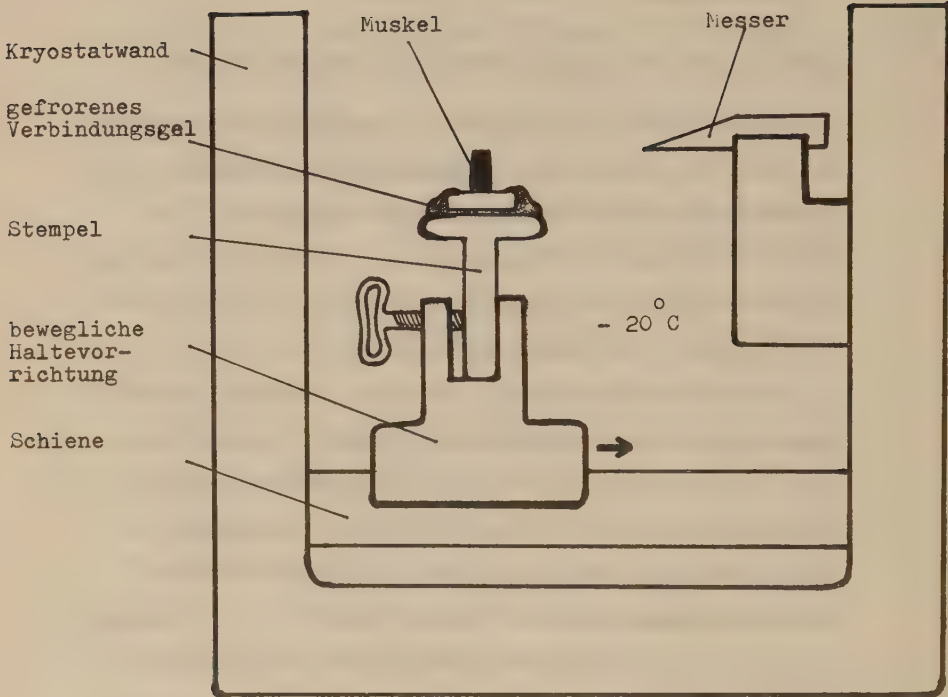


Abb. 8 : Aufbau der Schneidevorrichtung im Kryostat

2.4.2. Darstellung der verschiedenen Fasertypen und der Kapillaren in den Muskelquerschnitten

Jeder Muskel besteht aus Fasern, die sich untereinander hinsichtlich ihrer morphologischen, biochemischen und physiologischen Eigenschaften unterscheiden.

In der Literatur sind für diese verschiedenen Fasertypen mehrere Einteilungsmöglichkeiten beschrieben worden

(Abb. 9 zeigt eine Übersicht).

lage der Unter - idung	Autor	Bezeichnung der verschiedenen Fasertypen		
tronenmikroskop	Gauthier (27)	Intermediär	Rot	Weiß
iple histochem. nschaften	Ogata (66)	Medium	Rot	Weiß
	Stein & Padykula (87)	B	C	A
	Romanaul (75)	III	II	I
	Henneman & Olson (38)	C	B	A
	Kugelberg & Edström (52)			
lobingehalt	James (46)	-	Hoch	Niedrig
fwechsel	Dubowitz & Pearse (16)	I (Oxidativ)	II (Oxid./Gly.)	II (Glykolyt.)
raktions - hwindigkeit	Olson & Swett (67)	Langsam	Schnell	Schnell
raktionsgeschw. Stoffwechsel	Peter (69)	SO (Langsam und oxidativ)	FOG (Schnell und oxid./gly.)	FG (Schnell und glykolyt.)
raktionsgeschw. Ermüdbarkeit	Burke (10)	S (Langsam und nicht ermüd- bar)	FR (Schnell und mäßig ermüd- bar)	FF (Schnell und stark ermüd- bar)
ase - Aktivität	Engel (21)	I (Niedrig)	II (Hoch)	II (Hoch)
ase - Stabilität	Guth & Samaha (32)	Säurestabil	Säurelabil	Säurelabil
ase - Aktivität bei ch. pH - Werten	Brooke & Kaiser (8)	I	II A	II B

Die Verschiedenartigkeit der Muskelfasern erfordert eine nach Fasertypen differenzierte Betrachtung des Einflusses von Immobilisation und Elektrotherapie.

Die derzeit gebräuchlichste Methode zur Faserklassifizierung teilt die Muskelfasern nach ihrer jeweiligen ATP ase-Aktivität ein.

Danach werden prinzipiell zwei Fasertypen unterschieden, der sogenannte Typ I mit niedriger und Typ II mit hoher ATP ase-Aktivität. Diese auch in die moderne klinische Diagnostik eingegangene Einteilung wurde bei den vorliegenden Untersuchungen verwendet.

2.4.2.1. Färbung zur Faserdifferenzierung

Zur Faserdifferenzierung wurde ein histochemisches Verfahren benutzt, das ATP als Substrat verwendet (68) und die Fasertypen je nach ihrer ATP ase-Aktivität verschieden anfärbt. Das Prinzip dieser von Dubowitz & Brooke (15) 1973 beschriebenen Methode besteht darin, daß Muskelschnitte mit ATP und Calcium bei einem pH - Wert von 9,4 inkubiert werden, worauf die myofibrilläre ATP ase des Muskelgewebes vom ATP jeweils ein Phosphat abspaltet, das sich mit Calcium zu Calciumphosphat verbindet. Letzteres ist bei alkalischem pH - Wert unlöslich, also am Ort der Enzymaktivität lokalisiert. Mittels Kobaltchlorid und Ammoniumsulfid wird Calciumphosphat in Kobaltphosphat und schließlich in das schwarzbraun erscheinende, unlösliche Kobaltsulfid umgewandelt.

Beide Fasertypen weisen eine qualitativ unterschiedliche ATP ase auf. Die Muskelfaser vom Typ I besitzt eine säure-

stabile und alkalilabile, die Muskelfaser vom Typ II eine alkalistabile und säurelabile ATP ase (32).

Dadurch ist es möglich mit einem geeigneten pH - Wert in der Vorinkubation die ATP ase eines Fasertyps weitgehend zu inaktivieren, wodurch dieser im Gegensatz zum Fasertyp mit der aktiven ATP ase weniger intensiv gefärbt und deshalb heller dargestellt wird. Beispielsweise ergibt eine Färbung mit einer Vorinkubation bei einem sauren pH - Wert von 4,3 eine Dunkelfärbung des Fasertyps I (säurestabile ATP ase) und eine Hellfärbung des Fasertyps II (säurelabile ATP ase).

Bei der hier verwendeten Färbung wurden die Präparate bei einem alkalischen pH - Wert von 9,8 vorinkubiert. Deshalb stellte sich der Fasertyp I (alkalilabile ATP ase) hell und der Fasertyp II (alkalistabile ATP ase) dunkel dar (Abb. 10).

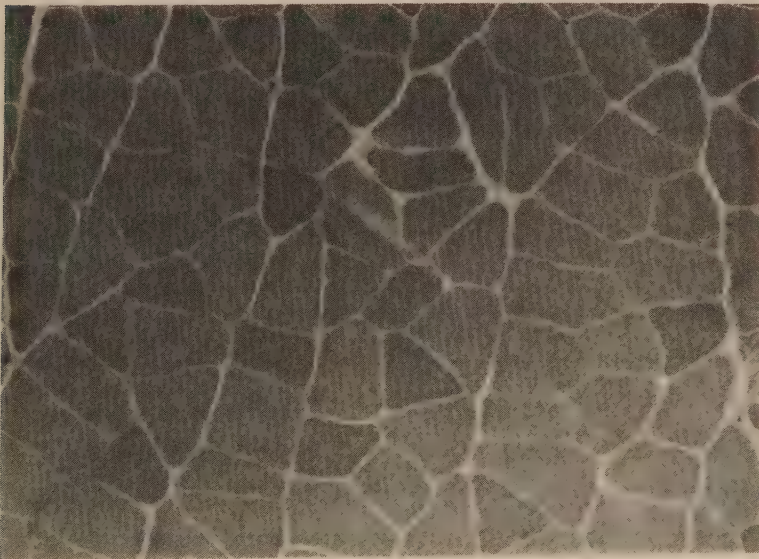


Abb. 10 : Ausschnitt aus einem Muskelpräparat, das mit der ATP ase - Färbung bei einer Vorinkubation von pH 9,8 angefärbt wurde (Typ I ist hell. Typ II dunkel).

Vorgehen bei der ATP ase-Färbung nach Dubowitz & Brooke :

Die getrockneten Gewebeschnitte wurden zuerst 10 Minuten lang bei Raumtemperatur in Lösung A bei einem pH - Wert von 9,8 vorinkubiert.

Anschließend mußten die Objektträger in destilliertem Wasser gewaschen und mit Filterpapier getrocknet werden. Die Hauptinkubation der Präparate in Lösung B bei einem pH - Wert von 9,4 fand bei 37 Grad Celsius im Brutschrank statt und dauerte 10 Minuten.

Nun wurden sie nacheinander in drei Gefäßen mit 1 % iger Calciumchloridlösung (Lösung C) zwei, drei und schließlich 5 Minuten lang ausgewaschen.

Darauf folgte ein dreiminütiger Aufenthalt der Schnitte in 2 % igem Kobaltchlorid (Lösung D).

Im Anschluß daran wurden die Objektträger fünfmal in jeweils frischer Barbitursäurelösung (Lösung E) sorgfältig ausgewaschen und danach 45 Sekunden lang in fließendes Leitungswasser gehalten.

Nun wurden die Präparate für 20 Sekunden in 1 % ige Ammoniumsulfidlösung (Lösung F) gegeben und nochmals 5 Minuten lang in fließendem Leitungswasser gereinigt.

Vor dem Eindecken wurden die Objektträger in einer aufsteigenden Alkoholreihe (70%, 80%, 96%, 100%) von Wasser-rückständen befreit und in Xylol gegeben.

Nach Aufbringen eines Tropfen des Schnelleindeckmittels Entellan wurden die Schnitte schließlich mit Deckgläsern luftdicht abgedeckt.

Herstellen der Lösungen A - F :

Lösung A : 0,1 M Na-barbiturat : 40ml (2,062 g auf 100ml H₂O)
0,18M CaCl₂ : 20ml (1,998 g auf 100ml H₂O)
Aqua dest. : 140ml

pH - wert mit 2n - NaOH auf 9,8 einstellen.

Lösung B : 0,1 M Na-barbiturat : 8ml (2,062 g auf 100ml H₂O)
0,18M CaCl₂ : 4ml (1,998 g auf 100ml H₂O)
ATP Disodium : 100mg !
(MG = 551,2 g)

Diese drei Reagenzien wurden gemischt, filtriert und anschließend mit Aqua dest. auf ein Volumen von 40ml gebracht. Der pH - Wert wurde mit 2n NaOH auf 9,4 eingestellt (pH - Meter Kontrolle).

Anschließend wurde die Hauptinkubationslösung in ein vorgewärmtes Färbegefäß gegeben, um die Zeitspanne bis zum Erreichen der benötigten Temperatur von 37 Grad Celsius zu verkürzen.

Lösung C : CaCl₂ (MG = 147) : 10g
Aqua dest. : 1000ml

Lösung D : CoCl₂ (MG = 238) : 4g
Aqua dest. : 200ml

Lösung E : Na-barbiturat : 2,062g
Aqua dest. : 1000ml

Lösung F : 20 % iges Ammoniumsulfid : 2ml
Aqua dest. : 198ml

2.4.2.2. Färbung zur Kapillardarstellung

Die Anfärbung der Kapillaren erfolgte ebenfalls mittels eines histochemischen Verfahrens, bei dem ATP und Calcium als Substrate verwendet wurden(85).

Diese 1977 von Sillau & Banchemo angewandte Methode stellt eine Modifizierung der von Dubowitz & Brooke beschriebenen Färbung zur Faserdifferenzierung dar. Der Unterschied besteht darin, daß die Präparate nicht bei einem zur Faserdifferenzierung benötigten pH - Wert von 9,4 bzw. 4,3 , sondern bei einem pH - Wert von 3,8 vorinkubiert werden. Durch Vorbehandlung in diesem extrem sauren Milieu wird nicht nur die säurelabile ATPase des Muskelfasertyps II, sondern auch die säurestabile ATPase des Muskelfasertyps I inaktiviert (32). In Querschnitten dieser Färbungsmethode sind beide Fasertypen nicht angefärbt, da ihre jeweilige ATPase nicht in der Lage ist, vom zugegebenen ATP ein Phosphat abzuspalten und so die Färbereaktion in Gang zu setzen(Abb. 11).

Im Gegensatz dazu werden die Kapillaren angefärbt, da deren Endothelzellen Enzyme enthalten, die auch bei diesem sauren pH - Wert das ATP hydrolysieren (26,29,62).

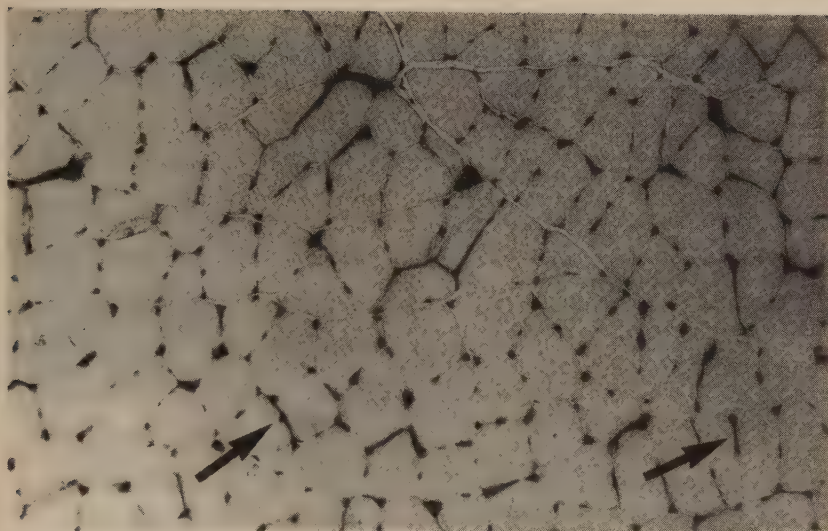


Abb. 11 : Ausschnitt aus einem Muskelpräparat, das mit der ATP ase - Färbung bei einer Vorinkubation von pH 3,8 angefärbt wurde. Nur die Kapillaren sind angefärbt. Zwei benachbarte Kapillarquerschnitte gehören zu ein und derselben Kapillare, wenn sie durch eine mehr oder weniger geschwärzte Linie verbunden sind (Pfeil), die eine quer zur Faserichtung verlaufende und eben noch angeschnittene Kapillarschlinge darstellt.

Vorgehen bei der von Sillau & Banchemo beschriebenen ATP ase - Färbung :

Die 10 Mikrometer dicken Gewebeschnitte wurden 5 Minuten lang bei Raumtemperatur in 0,2M Barbiturat-Acetat-Puffer (Lsg.A) bei einem pH - Wert von 3,8 vorinkubiert und anschließend in Lösung B 30 Sekunden lang ausgewaschen. Von der nun folgenden 45 minütigen Hauptinkubation an wurde diese Färbung

wie die unter 2.4.2.1. beschriebene Färbung zur Faserdifferenzierung weitergeführt.

Herstellen der Lösungen A und B :

Lösung A : Natriumacetatlsg. : 5ml (1,94g auf 50ml H_2O)
Natriumbarbituratlg. : 5ml (2,94g auf 50ml H_2O)
Aqua dest. : 16ml
0,1M Salzsäure (HCl) : 20ml
Nach Zusammenschütten dieser Reagenzien wurde mit
0,1M Salzsäure der pH - Wert auf 3,8 eingestellt.

Lösung B : 0,1M Na-barbiturat : 8ml (2,062 g auf 100ml H_2O)
0,18M $CaCl_2$: 4ml (1,998 g auf 100ml H_2O)
Aqua dest. : 28ml
Nach Zusammenschütten dieser Reagenzien wurde mit
2N NaOH der pH - Wert auf 9,4 eingestellt.

Die Hauptinkubationslösung und alle weiteren Lösungen wurden wie unter 2.4.2.1. angegeben hergestellt.

2.4.2.3. Vorversuche

Für die Faserdifferenzierung bei menschlichem Muskelgewebe wird die oben beschriebene ATP ase - Färbung nach Dubowitz & Brooke mit einem pH - wert von 9,4 ! in der Vorinkubationslösung benutzt.

Um einen optimalen Kontrast der beiden Muskelfasertypen auch beim Rattenmuskel zu erhalten, wurden verschiedene pH - werte

zwischen 9,0 und 10,0 in der Vorinkubation getestet.

Hierbei erwies sich ein pH - Wert von 9,8 als am besten geeignet.

Eine Ausdehnung der Hauptinkubationsdauer von 10 Minuten auf 20 bzw. 45 Minuten brachte hingegen keine Verstärkung der Farbunterschiede zwischen den beiden Muskelfasertypen.

Ferner wurden Präparate mit verschiedenen Schnittdicken (5,10,15,20 und 25 Mikrometer) miteinander verglichen. Auch hier konnten keine bemerkenswerten qualitativen Unterschiede beobachtet werden.

Für die Färbung zur Kapillardarstellung waren bei unseren Versuchen Muskelschnitte mit 10 Mikrometer am besten geeignet. Der günstigste pH - Wert für die Vorinkubation lag, wie von Sillau & Banchero auch angegeben, bei 3,8. Zu diesem Resultat führten Vergleiche mit Präparaten, die bei pH - Werten von 3,6 - 4,0 vorinkubiert wurden. Werden die pH - Werte höher, i.e. alkalischer als 4,0 gewählt, wird die Inaktivierung der ATP ase des Muskelfasertyps I zunehmend aufgehoben und Bezirke dieses Fasertyps vermehrt dunkel angefärbt. Eine sichere Identifizierung der ebenfalls dunkel gefärbten Kapillaren ist in diesem Bereich schwierig.

Die schließlich angewandte Kapillardarstellung mit Hilfe der ATP - Reaktion nach Sillau & Banchero wurde vor Beginn der Versuche noch mit zwei anderen Methoden der Kapillarfärbung verglichen. Hierbei handelte es sich um die ATP ase-Färbung nach Guth & Samaha (33) bei einer Vorinkubation mit einem pH - Wert von 10,4 und der alkalischen Phosphatase-Reaktion (74). Erstere ergab keine verlässlichen Resultate, da manchmal nicht alle Kapillaren angefärbt wurden. Letztere wies bezüglich der Zahl der angefärbten Kapillaren keine Unterschiede zur verwendeten ATP ase-Reaktion auf.

2.5. Auswertung der gefärbten Muskelpräparate

Die ATP ase - Färbung nach Dubowitz & Brooke zur Faserdifferenzierung zeigt eine schachbrettartige Verteilung der Muskelfasertypen I und II im m. soleus.

Im gesamten Muskelquerschnitt ist die Faserverteilung homogen und weist keine regionalen Besonderheiten auf (Abb.12). Deshalb konnten zur Auswertung beliebige Areale herangezogen werden.



Abb. 12 : Schachbrettartige, homogene Muskelfaserverteilung im gesamten Querschnitt des m. soleus.
ATP ase - Färbung nach Dubowitz & Brooke mit
einem pH - Wert von 9,8 in der Vorinkubation.
(36 fache Vergrößerung)

2.5.1. Herstellen von Photographien

Zur Bestimmung der Faseranzahl und -durchmesser und der Kapillarwerte pro Faser bzw. pro mm^2 mußten zunächst Photographien von den gefärbten Muskelpräparaten hergestellt werden. Dies geschah mit einer automatischen Kleinbildkamera, die an das Mikroskop UnivaR der Firma Reichert angeschlossen war.

Die Abzüge wurden auf ein Format von 24 cm mal 16 cm vergrößert und bildeten eine Originalmuskelfläche von $0,427 \text{ mm}^2$ ab. Bei dieser 300 fachen Vergrößerung entsprach 1mm der Vergrößerung 3,333 Mikrometer.

2.5.2. Kapillarenzählung

Es wurde pro Muskel ein Photo ausgewertet.

Auf der darauf abgebildeten Muskelfläche von $0,427 \text{ mm}^2$ befanden sich im Durchschnitt etwa 150 - 350 Fasern mit den dazugehörigen Kapillaren. Dieser Umfang der Auswertung wird im allgemeinen als ausreichend angesehen (31,41,63), um zuverlässige Ergebnisse zu erhalten. Bei der Zählung der Kapillaren mußte darauf geachtet werden, größere Gefäße nicht mitzuzählen.

Durch den für rote Muskeln typischen und schon häufig beschriebenen geschlängelten Verlauf der Gefäße (51,53, 61,73,81,88) wurden manchmal längs angeschnittene Kapillaren beobachtet. Selten wurden auch zwei benachbarte, quer getroffene und durch eine gefärbte Verbindungslinie verbundene Kapillaren entdeckt (Abb.11). Beide Erscheinungen wurden bei der Zählung nur als eine Kapillare gerechnet (2). Die ermittelte Zahl von Kapil-

laren auf einem Photo mußte mit dem Faktor 2,344 multipliziert werden, um den Wert der Kapillardichte (Kapillaren/mm²) zu erhalten.

Der zweite Kapillarparameter, die Kapillarisierung (Kapillaren/Faser), wurde errechnet, indem der Wert der gezählten Kapillaren eines Photos durch die Anzahl der abgebildeten Fasern des gleichen Photos geteilt wurde.

2.5.3. Histometrie (Myometrie)

In vielen Arbeiten wurde der Einfluß verschiedenster Parameter auf die Muskelmasse durch Messung des Muskelumfangs (50,77) oder des Muskelgewichts (5,6,30,91) untersucht.

In der vorliegenden Arbeit konnte der Einfluß von Immobilisation und Elektrotherapie auf den musculus soleus durch Bestimmung der Muskelfaserdurchmesser sehr viel genauer quantifiziert werden. Dazu wurden pro Muskel 4 Photos ausgewertet. Hiermit war gewährleistet, daß eine genügende Anzahl der im m. soleus relativ selten vorkommenden Muskelfasern vom Typ II erfaßt wurde, um auch über sie eine gültige Aussage treffen zu können.

Die Auswertung der Faserkaliber erfolgte getrennt nach Typ I - und Typ II - Fasern mit dem Kontron-Planimeter. Als Meßkriterium wurde die größtmögliche Senkrechte auf den längsten Durchmesser der polygonalen Muskelfaserfläche benutzt. Diese von Jerusalem (47) empfohlene Methode liefert auch bei nicht exakt quer getroffenen Fasern verlässliche Resultate (Abb. 13). Das Kontron -

Meßsystem arbeitete mit einem hoch auflösenden Auswertetablett und Auswertestiften. Es wurden für jeden Bildpunkt innerhalb des Meßfeldes absolute X-Y-Koordinaten gemessen, die auf einen festen Nullpunkt bezogen waren. Beim Auflegen der Photographie auf das Auswertetablett und Abfahren der zu messenden Strecke je Einzelfaser wurden alle zu dieser Struktur gehörenden Koordinatenpaare unmittelbar in absolute Längenwerte umgesetzt. Die ermittelten Einzeldaten wurden im integrierten Rechner unter Berücksichtigung des Vergrößerungsfaktor (300-fache Vergrößerung) in Mikrometer-Einheiten umgerechnet und als Histogramm auf den angeschlossenen Plotter graphisch ausgegeben. Insgesamt konnten 28 Faserklassen mit einem Intervall von 2,85 Mikrometer in diesem Histogramm dargestellt werden. Gleichzeitig wurden in numerischer Form Mittelwert, Standardabweichung, Gesamtzahl der pro Muskel ausgezählten Faserquerschnitte und ihre Aufteilung in Typ I - und Typ II - Fasern ausgedruckt.

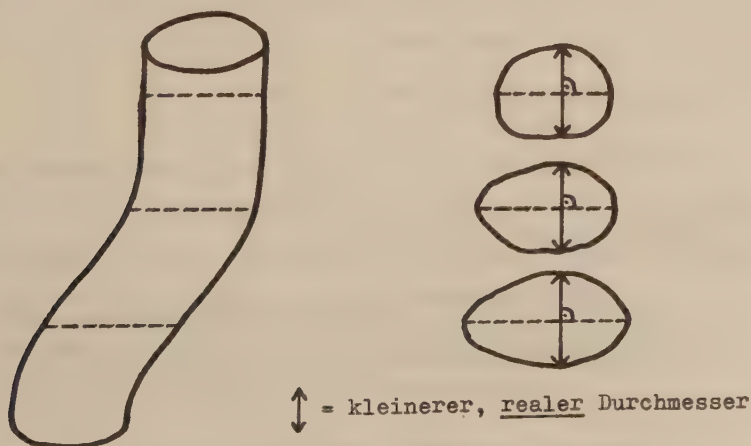


Abb. 13 : Darstellung des kleineren Durchmessers von querschnittenen Muskelfasern (nach Jerusalem).

2.6. Statistische Auswertung

2.6.1. Statistische Merkmale der Zahlengruppen

Von jeder Zahlengruppe wurde der Mittelwert $\bar{x}$, Standardabweichung S_{x_i} und Standardabweichung des Mittelwerts $S_{\bar{x}}$ (= einfacher mittlerer Fehler des zugehörigen Mittelwerts) errechnet.

Dazu wurden folgende Formeln angewandt:

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n}$$

$$S_{x_i} = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

$$S_{\bar{x}} = \frac{S_{x_i}}{\sqrt{n}}$$

wobei x_i = einzelne absolute Werte

n = Anzahl der Werte in einer Gruppe

2.6.2. Berechnung der Signifikanz

Durch den Student - t - Test für die Differenz zweier Mittelwerte aus unverbundenen Stichproben kann die Signifikanz errechnet werden.

Es wird eine Prüfgröße t ermittelt, für die folgende Formel

gilt :

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\frac{s_{x_{i,1}}^2 (n_1 - 1) + s_{x_{i,2}}^2 (n_2 - 1)}{n_1 + n_2 - 2}} \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right)$$

Das zugehörige Rechenverfahren (78) wurde auf einem TI - Rechner SR 52 einprogrammiert.

Jedem t-Wert kann aus einer Tabelle (25) in Abhängigkeit von den Freiheitsgraden (= $n_1 + n_2 - 2$) ein p-Wert für den Grad der Irrtumswahrscheinlichkeit zugeordnet werden. Für statistisch signifikante Unterschiede zwischen zwei Gruppen wurden drei verschiedene Wahrscheinlichkeitsgrade festgelegt:

p	≤	0,05	schwach signifikant
p	≤	0,01	signifikant
p	≤	0,001	stark (hoch) signifikant

Bei diesen drei Fällen liegt die Irrtumswahrscheinlichkeit bei 5 %, 1 %, bzw. 0,1 %. Dies bedeutet, es kann jedes 20ste, 100ste, bzw. 1000ste als signifikant erklärte Ergebnis auch zufällig zustande gekommen sein.

Diese drei Signifikanzschranken sind Grundlage aller im Ergebnisteil folgenden Signifikanzangaben.

3. Ergebnisse

3.1. Tiergewicht

Die Gewichte aller Tiere wurden vor Beginn und nach Beendigung der Versuche bestimmt.

Eine Übersicht über die Mittelwerte der Tiergewichte der 4 Therapiegruppen am Anfang und Ende der Behandlung gibt die folgende Tabelle.

Gruppe	n	AG	EG	dG	d%
I	21	195	233	38	19,5
II	19	198	240	42	21,2
III	15	189	230	41	21,7
IV	14	187	274	87	46,5

n = Anzahl der Tiere pro Gruppe

AG = Mittelwert der Anfangsgewichte in Gramm

EG = Mittelwert der Endgewichte in Gramm

dG = EG minus AG (absolute Zunahme)

d% = $100 \times \left(\frac{EG}{AG} - 1 \right)$ (relative Zunahme in Prozent)

Die Tiere der Gruppe I (Gips und Schwellstromtherapie) steigerten ihr Gewicht von durchschnittlich 195 gr. auf 233 gr. , was einer prozentualen Zunahme von 19,5% entspricht.

Die Tiere der Gruppe II (Gips und Galvanisation) vergrößerten ihr Gewicht während der Versuchsdauer um 21,2%, die Tiere der Gruppe III (Gips,keine Elektrotherapie) um 21,7%.

Alle drei " Gipsgruppen " verzeichnen also eine Steigerung Ihres Körpergewichts um etwa 20 %.

Von diesen unterscheidet sich die Nullkontrollgruppe IV (kein Gips,keine Elektrotherapie) ganz deutlich. wie in der

oben abgebildeten Tabelle ersichtlich ist, trat bei den Tieren der Gruppe IV ein Anstieg des Gewichts von ursprünglich 187 gr. auf 274 gr. am Ende des Versuches auf. Dies ergibt eine Zunahme des Gewichts um 46,5 %.

3.2. Muskelgewicht

Die Bestimmung des Muskelgewichts ist ein altes und einfach zu ermittelndes Kriterium zur Beurteilung einer Muskeltrophie. Sie wurde in der vorliegenden Arbeit zur Ergänzung der zeitgemäßen histometrischen Messung der Muskelfaserdurchmesser gemacht.

In der folgenden Übersicht wurden die Mittelwerte der Muskelgewichte der 4 Gruppen, getrennt nach linken und rechten Extremitäten, tabellarisch zusammengefaßt.

Gruppe	n	L.B.		R.B.		d%
		$\bar{x}$	$S_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	$S_{\bar{x}}$	
I	21	117,19	4,48	57,14	2,78	-51,24
II	19	112,42	3,38	54,10	2,87	-51,87
III	15	112,06	3,98	52,80	3,31	-52,88
IV *	22	116,61	3,43	116,61	3,43	

* Die Muskelgewichte der rechten und linken Extremitäten der Gruppe IV (Nullkontrollgruppe) unterschieden sich nicht und wurden deshalb nicht getrennt aufgeführt.

n = Anzahl der Einzelwerte

LB= Linkes Bein, RB= Rechtes Bein

$\bar{x}$ = Mittelwert des Muskelgewichts in Milligramm

$S_{\bar{x}}$ = Standardabweichung des Mittelwerts in Milligramm

$d\% = 100 \times \left(\frac{\bar{x}_{RB}}{\bar{x}_{LB}} - 1 \right)$ (relative Abnahme in Prozent)

3.2.1. Ausmaß der Atrophie

Zunächst wurde festgestellt, daß mit der in den vorliegenden Versuchen praktizierten Immobilisationsmethode eine Muskelatrophie erzeugt werden kann. Dazu dienten die Tiere der Gruppe III (Gips, keine Elektrotherapie). Um eine Atrophie nachweisen zu können, wurde das Muskelgewicht des rechten, immobilisierten Beines mit dem Muskelgewicht des kontralateralen Beines desselben Tieres verglichen. Der m. soleus des rechten Beines wog mit $52,80 \pm 3,31$ mg um 52,88% weniger als sein kontralateraler Pendant mit $112,06 \pm 3,98$ mg. Diese Zahlen drücken eine hoch signifikante Muskelatrophie des immobilisierten Beines aus.

Die Muskeln der linken, nicht immobilisierten Beine wiesen keine kompensatorische Hypertrophie auf. Diese Aussage erlaubt der Vergleich der Muskelgewichte der linken Beine der Gruppe III ($112,06 \pm 3,98$ mg) mit den Beinen der Nullkontrollgruppe IV ($116,61 \pm 3,43$). Die minimale Abweichung ist statistisch nicht signifikant.

3.2.2. Einfluß der Schwellstromtherapie

Um den Einfluß der Schwellstromtherapie auf das Muskelgewicht zu ermitteln, wurde zuerst bei den Tieren der Gruppe I (Gips, Schwellstromtherapie) das Gewicht des m. soleus des linken, freien Beines mit dem des rechten, immobilisierten und therapierten Beines desselben Tieres verglichen. Es wurde eine hoch signifikante Abnahme des

Muskelgewichts des rechten ($57,14 \pm 2,78$) gegenüber dem kontralateralen Bein ($117,19 \pm 4,48$) von 51,24 % gefunden. Dieser Wert gleicht sehr dem bei der Gruppe III (Gips, aber keine Therapie) gefundenen Ergebnis von 52,88%. Außerdem wurde der Mittelwert der rechten Beine aus der Schwellstromgruppe I ($57,14 \pm 2,78$) dem der rechten Beine aus der Gipskontrollgruppe III ($52,80 \pm 3,31$) gegenübergestellt. Der Unterschied ist statistisch nicht signifikant.

3.2.3. Einfluß der Therapie mit galvanischem Strom

Die Auswirkung des galvanischen Stroms auf das Muskelgewicht wurde bei den Tieren der Gruppe II geprüft.

Das Muskelgewicht der rechten, immobilisierten und therapierten Beine wies einen Mittelwert von $54,10 \pm 2,87$ mg, das der kontralateralen Beine desselben Tieres einen Mittelwert von $112,42 \pm 3,38$ mg auf. Dies entspricht einer hoch signifikanten Verringerung der Muskelmasse des rechten Beines um 51,87 %.

Der Vergleich der Werte der rechten, immobilisierten und therapierten Beine der Gruppe II ($54,10 \pm 2,87$) und der rechten, immobilisierten und nicht therapierten Beine der Gruppe III ($52,80 \pm 3,31$) zeigt keinen statistisch signifikanten Unterschied.

Auf den beiden folgenden Seiten sind die Ergebnisse graphisch dargestellt und die statistischen Vergleiche in einem Diagramm zusammengefaßt.

Die Werte der einzelnen Tiere können im Anhang eingesehen werden.

3.2.4. Statistik

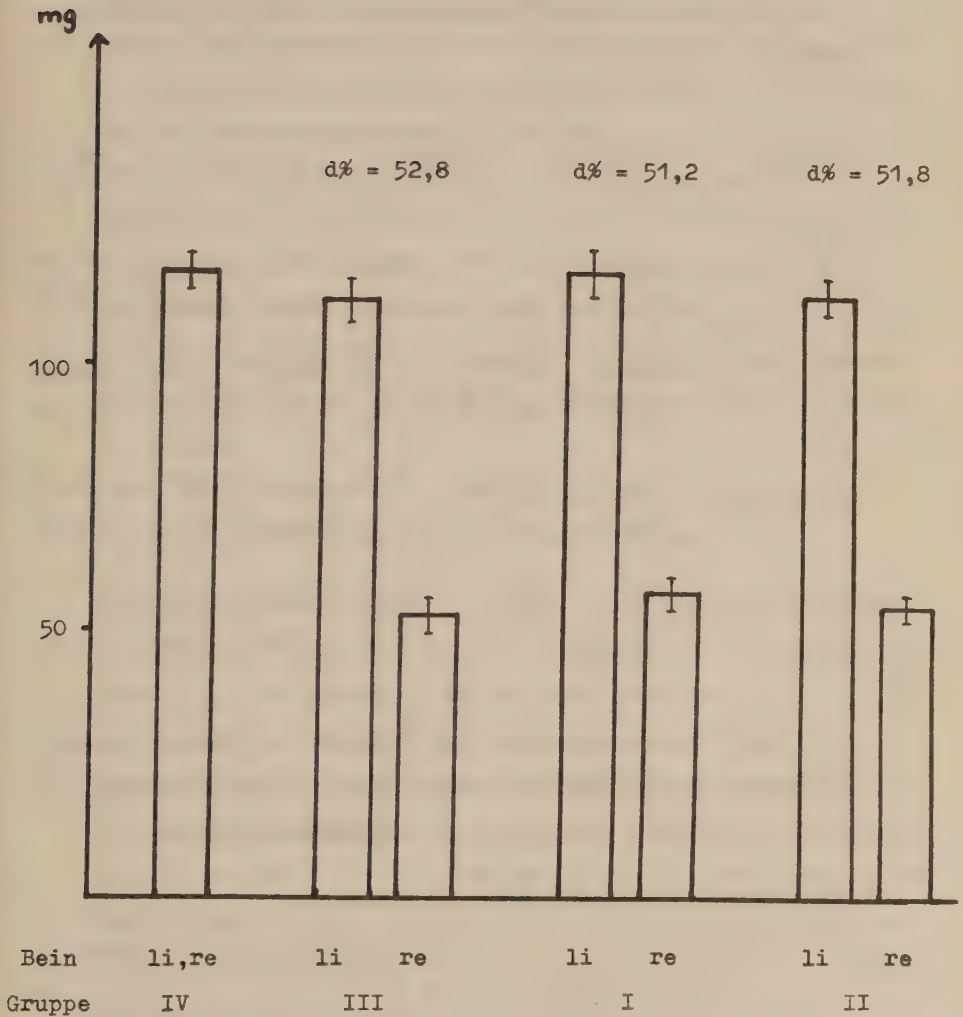
Darstellung der Mittelwertvergleiche verschiedener Gruppen anhand ihrer t - Werte(rechts oben) und p - Werte(links unten). Zur Erklärung der Begriffe siehe 2.6.

$\bar{x}$	117,1	57,1	112,4	54,1	112,0	52,8	116,6
$S_{\bar{x}}$	4,4	2,7	3,3	2,8	3,9	3,3	3,4
n	21	21	19	19	15	15	22
Gruppe	I	I	II	II	III	III	IV
Bein	li	re	li	re	li	re	li,re
I	li	11,3					0,0
	re	0,001				1,0	13,7
II	li		13,1				0,9
	re		0,001			0,2	14,1
III	li					11,4	0,8
	re	n.s.		n.s.	0,001		11,1
IV	li						
	re	n.s.	0,001	n.s.	0,001	n.s.	0,001

Zwischen den Werten der linken und rechten Extremität der Nullkontrollgruppe IV bestand kein Unterschied.

3.2.5. Graphische Darstellung

Abgebildet sind die Mittelwerte mit Standardabweichungen der 4 Gruppen, getrennt nach linkem und rechtem Bein.



3.3. Muskelfaserdurchmesser

Mit der modernen histometrischen Messung der Muskelfaserdurchmesser konnte der Atrophiegrad des m. soleus sehr genau bestimmt werden.

Die Ergebnisse der 4 Gruppen werden in der abgebildeten Tabelle, getrennt nach Muskelfasertyp I und II, dargestellt.

Gruppe	n	Faser- typ	Links		Rechts		d%
			$\bar{x}$	$S_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	$S_{\bar{x}}$	
I	21	Typ I	43,52	0,85	28,08	0,78	-35,47
		Typ II	36,27	0,76	27,02	0,87	-25,50
II	19	Typ I	42,17	1,39	26,71	1,40	-36,66
		Typ II	36,74	1,24	26,74	0,67	-27,21
III	15	Typ I	44,49	1,29	29,25	1,11	-34,25
		Typ II	36,71	1,08	28,53	1,18	-22,28
IV	22	Typ I	43,35	0,92	43,35	0,92	
		Typ II	37,97	0,92	37,97	0,92	

Die Muskelfaserdurchmesser der rechten und linken Extremitäten der Gruppe IV (Nullkontrollgruppe) unterschieden sich nicht und wurden deshalb nicht getrennt aufgeführt.

n = Anzahl der Einzelwerte (Muskeln)

$\bar{x}$ = Mittelwert der Muskelfaserdurchmesser in Mikrometer
(Ein Mikrometer = 10^{-3} mm)

$S_{\bar{x}}$ = Standardabweichung des Mittelwerts in Mikrometer

$d\% = 100 \times \left(\frac{\bar{x}_{\text{rechts}}}{\bar{x}_{\text{links}}} - 1 \right)$ (relative Abnahme in Prozent)

3.3.1. Ausmaß der Atrophie

Bei Betrachtung der Ergebnisse der Gruppe III (Gips, keine Elektrotherapie) wird deutlich, daß mit der praktizierten Immobilisationsmethode am rechten Bein eine Atrophie bei der Muskelfasertypen erreicht wurde.

Die Faserdurchmesser des m. soleus haben beim rechten, immobilisierten Bein einen Mittelwert von $29,25 \pm 1,11$ Mikrometer für den Muskelfasertyp I und $28,53 \pm 1,18$ Mikrometer für den Typ II. Die Mittelwerte des kontralateralen, freien Beines desselben Tieres betragen $44,49 \pm 1,29$ Mikrometer beim Muskelfasertyp I und $36,71 \pm 1,08$ Mikrometer beim Typ II. Aus diesen Zahlen errechnet sich für das immobilisierte Bein eine Verringerung der Durchmesser von 22,28 % beim Muskelfasertyp II und gar 34,25 % beim Muskelfasertyp I des musculus soleus.

Beide Atrophieraten sind hoch signifikant. Auffallend ist die größere Atrophierate des Muskelfasertyps I.

Eine kompensatorische Hypertrophie der Muskelfasern des kontralateralen Beines wurde nicht gefunden. Diese Feststellung bekräftigt die Aussage über die oben genannten Atrophieraten und basiert auf folgendem Ergebnis:

Die Werte für die Muskelfaserdurchmesser des linken Beines der Gipskontrollgruppe III liegen mit $44,49 \pm 1,29$ Mikrometer (Typ I) und $36,71 \pm 1,08$ Mikrometer (Typ II) sehr dicht an den Werten, die für die Nullkontrollgruppe IV ermittelt wurden ($43,35 \pm 0,92$ Mikrometer für den Typ I, $37,97 \pm 0,92$ Mikrometer für den Typ II). Die Unterschiede sind statistisch nicht signifikant.

3.3.2. Einfluß der Schwellstromtherapie

In der Gruppe I, die mit Schwellstrom behandelt wurde, weisen die Muskelfaserdurchmesser des rechten,therapierten Beines einen Mittelwert von $28,08 \pm 0,78$ Mikrometer für den Typ I und $27,02 \pm 0,87$ Mikrometer für den Typ II auf. Diese beiden Mittelwerte sind hochsignifikant kleiner im Vergleich zu den Mittelwerten der Muskelfaserdurchmesser des kontralateralen Beines desselben Tieres ($43,52 \pm 0,85$ für Typ I, $36,27 \pm 0,76$ für Typ II). Die Abnahme beträgt für den Muskelfasertyp I 35,47 % und für den Muskelfasertyp II 25,50 %.

Diese Atrophieraten sind jeweils höher als die Vergleichszahlen der Gruppe III (Gips,keine Elektrotherapie).

Der Muskelfasertyp I atrophiert stärker als der Muskelfasertyp II.

Weiter wurde gefunden, daß der Mittelwert der Muskelfaserdurchmesser des rechten Beines der Gruppe I geringgradig kleiner ist als der entsprechende Wert des rechten Beines der Gruppe III. Der Vergleich der Werte aus den rechten Beinen der Gruppe I ($28,08 \pm 0,78$ für Fasertyp I, $27,02 \pm 0,87$ für Fasertyp II) und Gruppe III ($29,25 \pm 1,11$ für Fasertyp I, $28,53 \pm 1,18$ für Fasertyp II) zeigt, daß dieser Unterschied nicht signifikant ist.

3.3.3. Einfluß der Therapie mit galvanischem Strom

Die Auswirkung des galvanischen Stroms auf das Atrophieverhalten des m. soleus wurde an den Tieren der Gruppe II untersucht.

Wie bei den anderen Gruppen, wurde auch hier zuerst der intraindividuelle Links-Rechts-Vergleich gemacht.

Es zeigte sich, daß der Mittelwert der Fasern der rechten, therapierten Beine ($26,71 \pm 1,40$ für Typ I, bzw. $26,74 \pm 0,67$ für Typ II) um 36,66 % (Typ I), bzw. um 27,21 % (Typ II) kleiner waren als die entsprechenden Werte der kontralateralen Beine ($42,17 \pm 1,39$ für Typ I, $36,74 \pm 1,24$ für Typ II). Diese Zahlen drücken eine hoch signifikante Atrophie des rechten Beines aus.

Der Vergleich zwischen den Muskelfaserdurchmessern der rechten Extremitäten der Gruppe II ($26,71 \pm 1,40$ für Typ I, $26,74 \pm 0,67$ für Typ II) und den Werten der rechten Extremitäten der Gipskontrollgruppe III ($29,25 \pm 1,11$ für Typ I, $28,53 \pm 1,18$ für den Typ II) ergab keinen signifikanten Unterschied.

Der intraindividuelle Links-Rechts-Vergleich ergab sowohl bei der Gruppe I, als auch bei der Gruppe II eine hoch signifikante Atrophie der rechten, immobilisierten Beine.

Der Vergleich der rechten, immobilisierten und therapierten Beine mit den rechten, immobilisierten und nicht therapierten Beinen der Gipskontrollgruppe III ergab bei der Schwellstromgruppe und bei der Galvanisationsgruppe keinen signifikanten Unterschied.

3.3.4. Zusammenfassung der Teilergebnisse

Die hinsichtlich der Muskelatrophie erhaltenen Ergebnisse zeigen :

- 1) Eine hochsignifikante Atrophie des immobilisierten Muskels
- 2) Eine stärkere Atrophie des Muskelfasertyps I verglichen mit Muskelfasertyp II
- 3) Keine kompensatorische Hypertrophie des kontralateralen Muskels desselben Tieres
- 4) Keine statistisch signifikanten Änderungen der Atrophieraten bei den Kollektiven mit Schwellstromtherapie (Gruppe I) und Behandlung mit galvanischem Strom (Gruppe II)

Auf den nächsten Seiten folgt eine graphische Veranschaulichung der Ergebnisse, eine Übersicht über die angestellten statistischen Vergleiche und die Abbildung der 8 Summenhistogramme.

Die Werte der einzelnen Tiere sind im Anhang abgedruckt.

3.3.5. Statistik

3.3.5.1. Typ I

Darstellung der Mittelwertvergleiche verschiedener Gruppen anhand ihrer t - Werte(rechts oben) und p - Werte(links unten). Zur Erklärung der Begriffe siehe 2.6.

$\bar{x}$	43,5	28,0	42,1	26,7	44,4	29,5	43,3
$S_{\bar{x}}$	0,87	0,78	1,39	1,40	1,29	1,11	0,93
n	21	22	19	19	15	15	22
Gruppe	I		II		III		IV
Bein	li	re	li	re	li	re	li,re
I	li	13,3					0,1
	re	0,001					0,8 12,5
II	li	11,0					0,7
	re		0,001			2,0	14,2
III	li					8,8	0,7
	re	n.s.		n.s.	0,001		9,6
IV	li						
	re	n.s.	0,001	n.s.	0,001	n.s.	0,001

Zwischen den Werten der linken und rechten Extremität der Nullkontrollgruppe IV bestand kein Unterschied.

3.3.5.2. Typ II

Darstellung der Mittelwertvergleiche verschiedener Gruppen anhand ihrer t - Werte(rechts oben) und p - Werte(links unten).

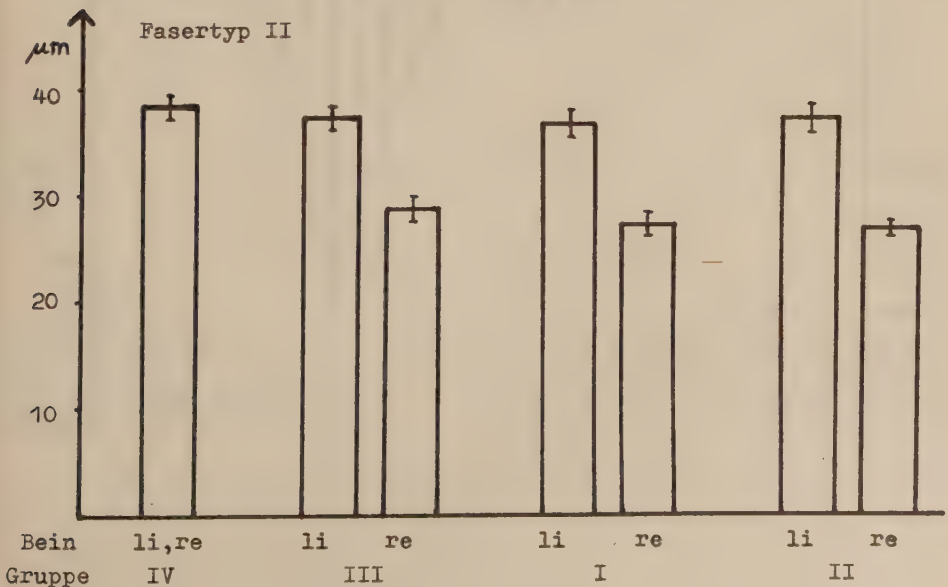
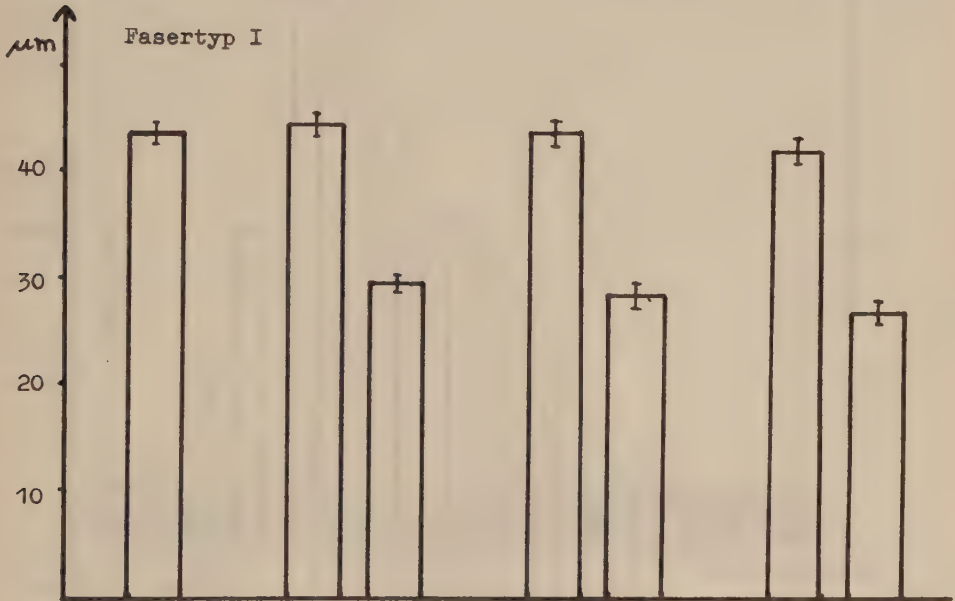
Zur Erklärung der Begriffe siehe 2.6.

$\bar{x}$	36,2	27,0	36,7	26,7	36,7	28,5	37,9
$S_{\bar{x}}$	0,76	0,87	1,24	0,67	1,08	1,18	0,92
n	21	21	19	19	15	15	22
Gruppe	I		II		III		IV
Bein	li	re	li	re	li	re	li,re
I	li	7,9					1,4
	re	0,001					1,0 8,5
II	li					7,0	0,8
	re	0,001			1,3	9,5	
III	li					5,0	0,8
	re	n.s.		n.s.	0,001	6,3	
IV	li	n.s.	0,001	n.s.	0,001	n.s.	0,001
	re						

Zwischen den Werten der linken und rechten Extremität der Nullkontrollgruppe IV bestand kein Unterschied.

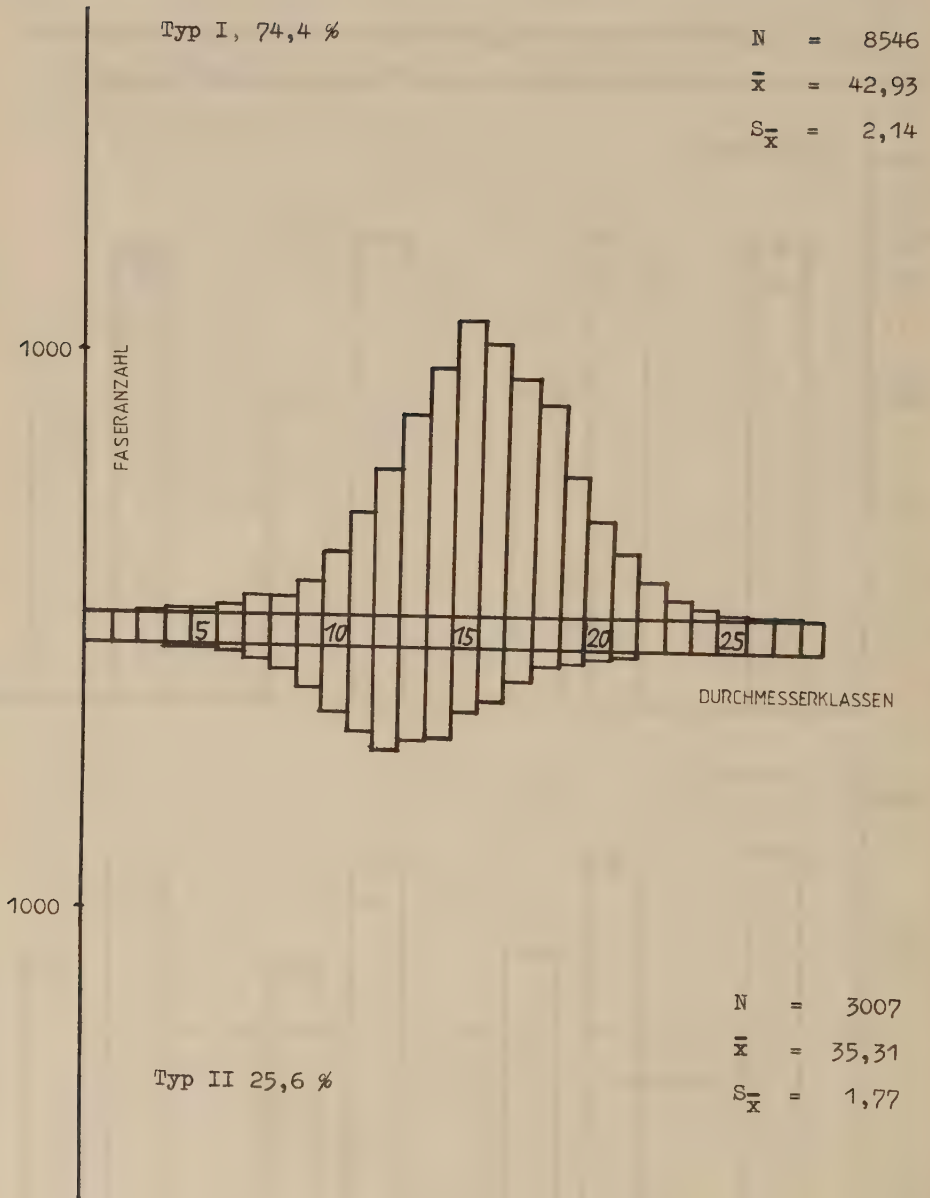
3.3.6. Graphische Darstellung

Abgebildet sind die Mittelwerte mit Standardabweichungen der 4 Gruppen, getrennt nach linkem und rechtem Bein.



3.3.7. Summenhistogramme

Gruppe I , links



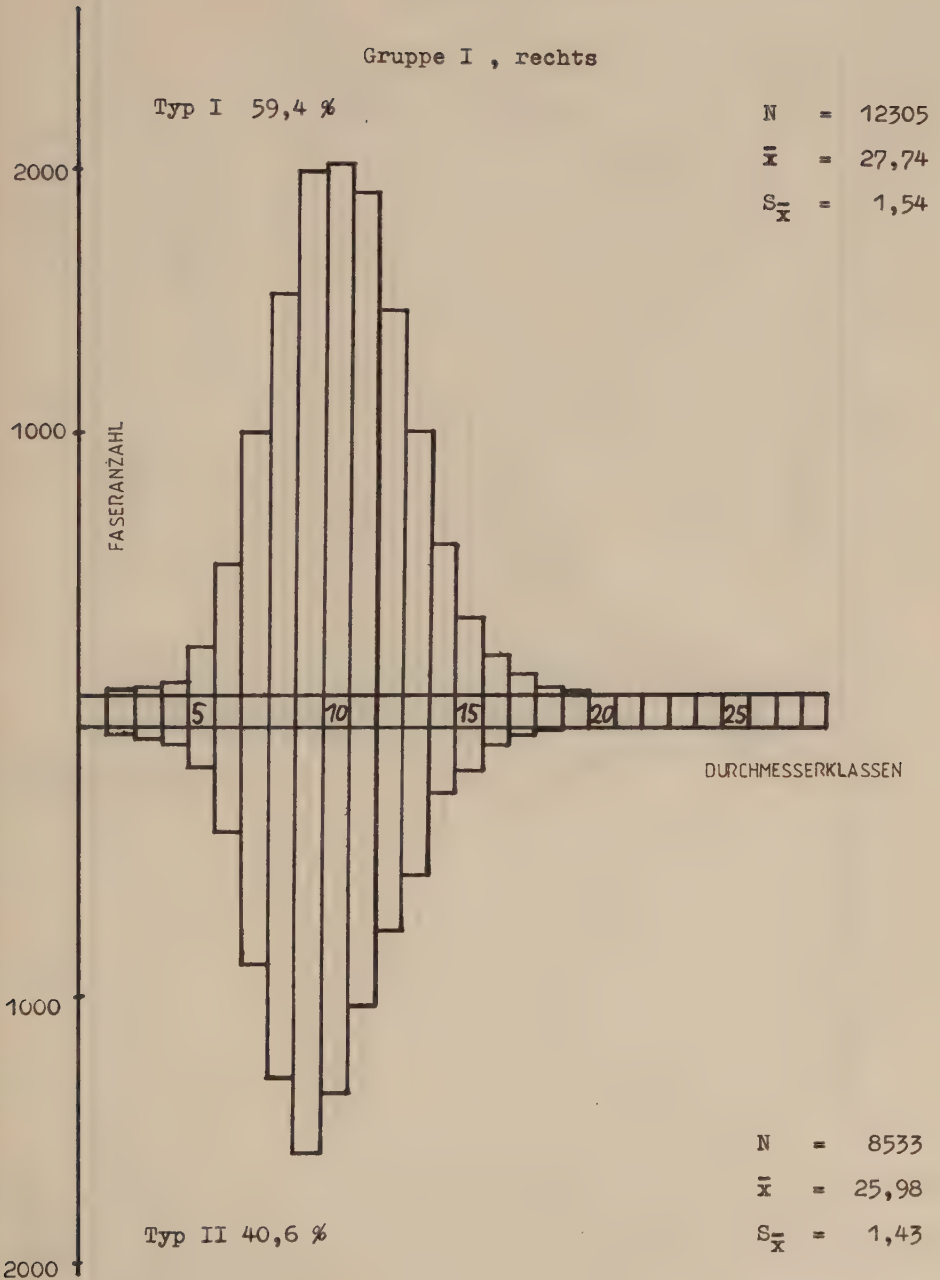
Gruppe I , rechts

Typ I 59,4 %

$N = 12305$

$\bar{x} = 27,74$

$S_{\bar{x}} = 1,54$



Typ II 40,6 %

$N = 8533$

$\bar{x} = 25,98$

$S_{\bar{x}} = 1,43$

Gruppe II , links

2000

Typ I 80,4 %

$N = 8881$

$\bar{x} = 41,83$

$S_{\bar{x}} = 2,39$

1000

FASERANZAHL



DURCHMESSERKLASSEN

1000

2000

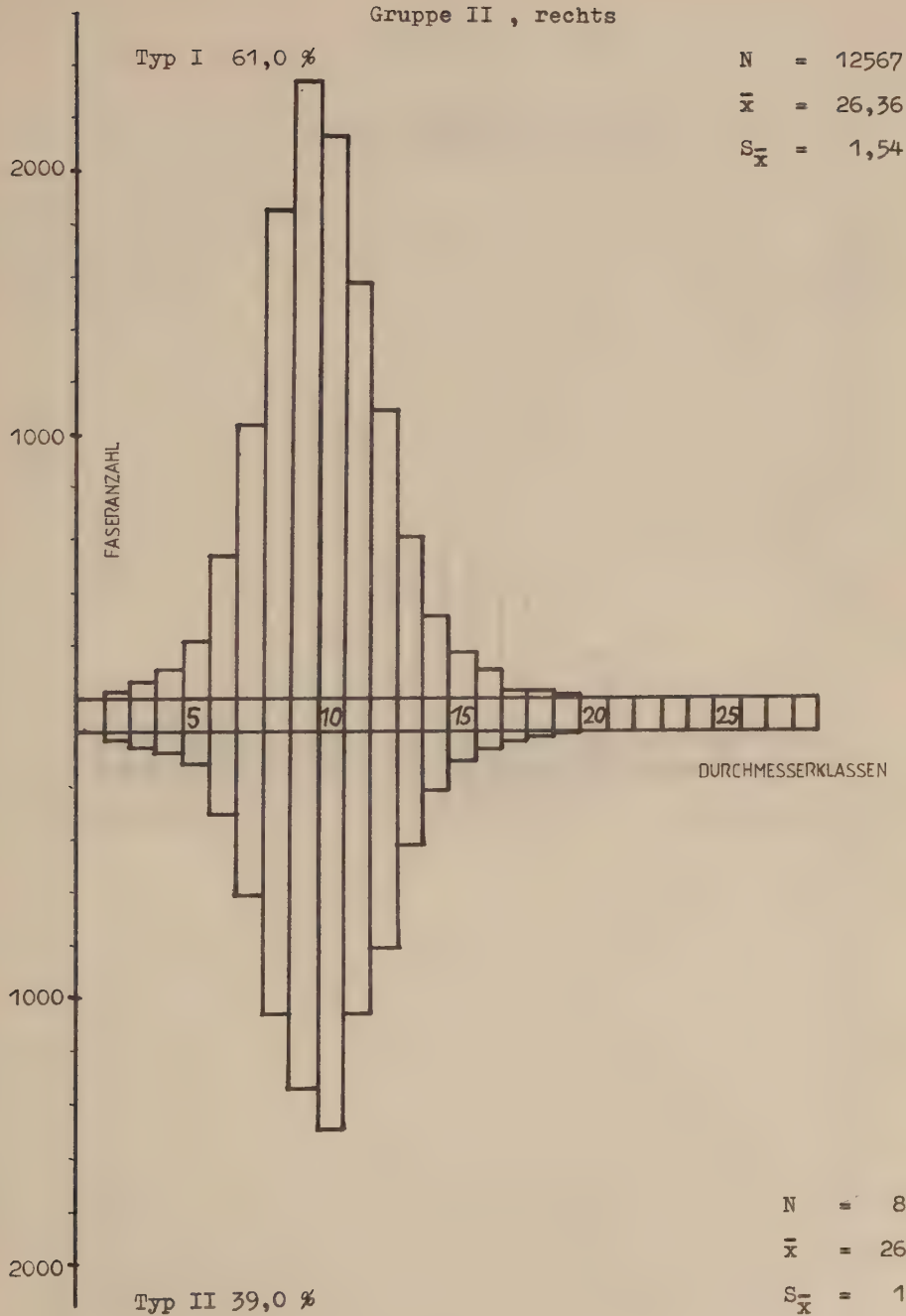
Typ II 19,6 %

$N = 2193$

$\bar{x} = 35,94$

$S_{\bar{x}} = 2,15$

Gruppe II , rechts



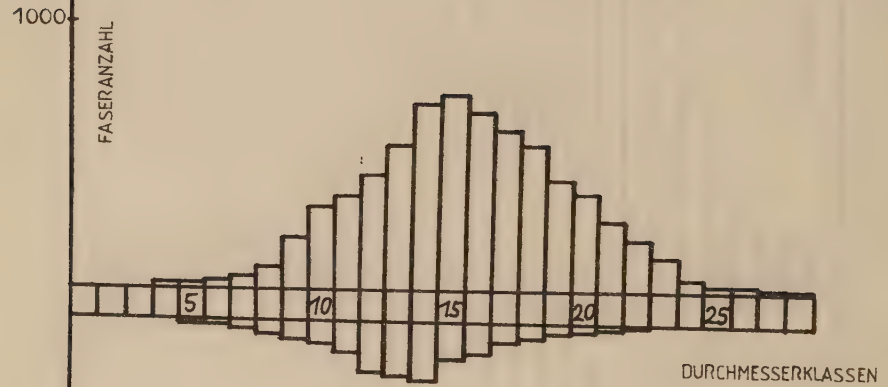
Gruppe III , links

Typ I 80,1 %

$N = 6638$

$\bar{x} = 43,30$

$S_{\bar{x}} = 2,72$



1000

Typ II 19,9 %

$N = 1591$

$\bar{x} = 36,70$

$S_{\bar{x}} = 2,17$

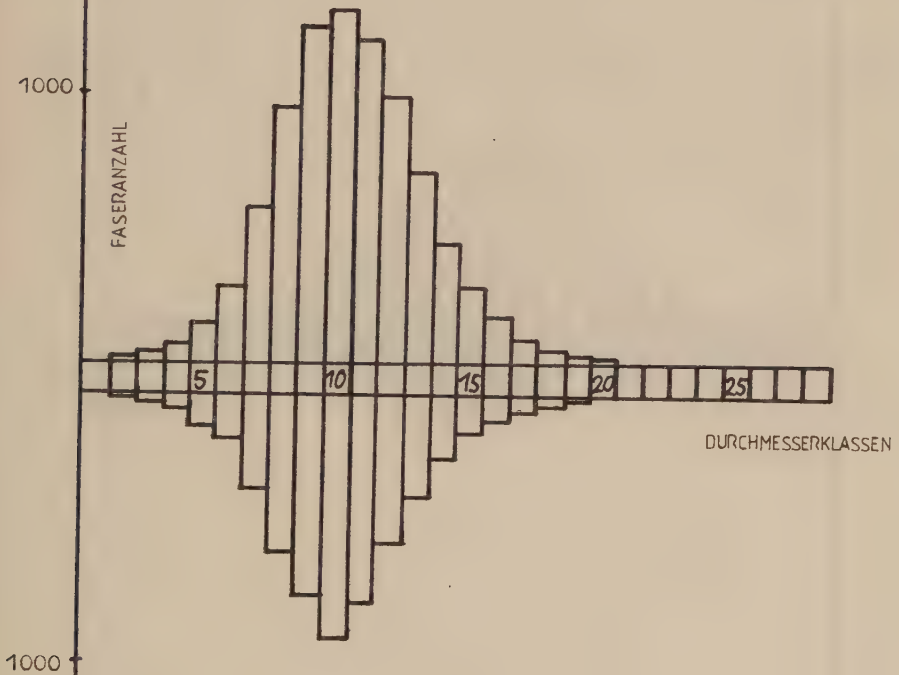
Gruppe III , rechts

Typ I 63,5 %

$N = 9027$

$\bar{x} = 28,31$

$S_{\bar{x}} = 1,99$



Typ II 36,5 %

$N = 5154$

$\bar{x} = 27,72$

$S_{\bar{x}} = 1,88$

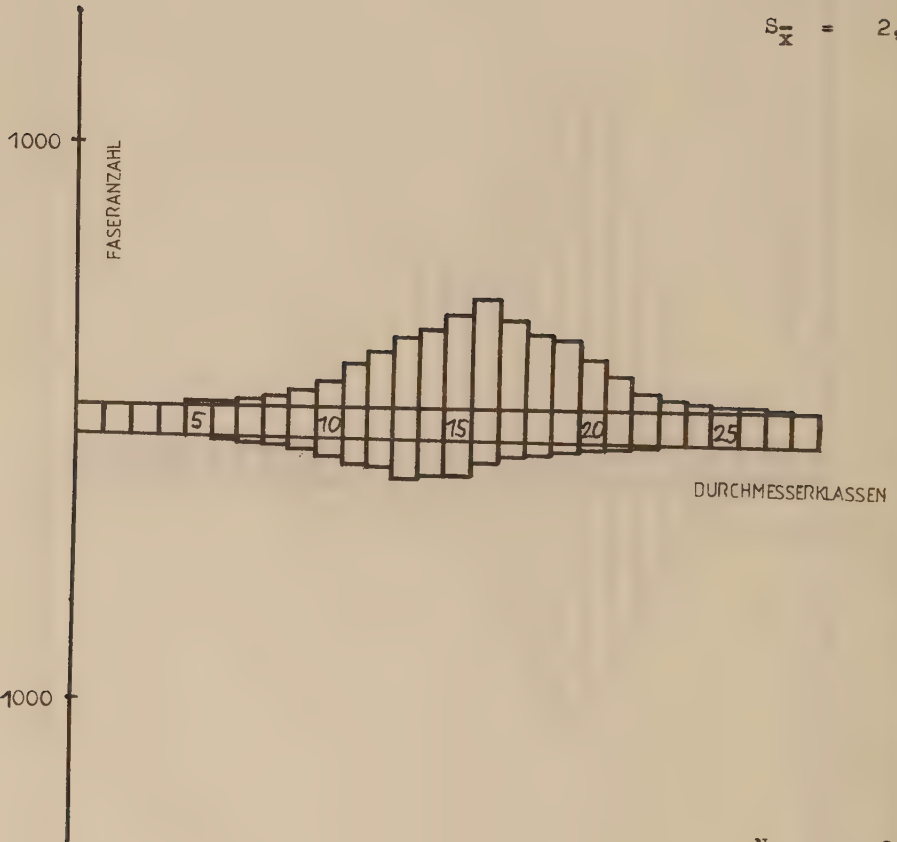
Gruppe IV , links

Typ I 76,9 %

$$N = 3337$$

$$\bar{x} = 43,84$$

$$S_{\bar{x}} = 2,65$$



Typ II 23,1 %

$$N = 925$$

$$\bar{x} = 37,41$$

$$S_{\bar{x}} = 2,20$$

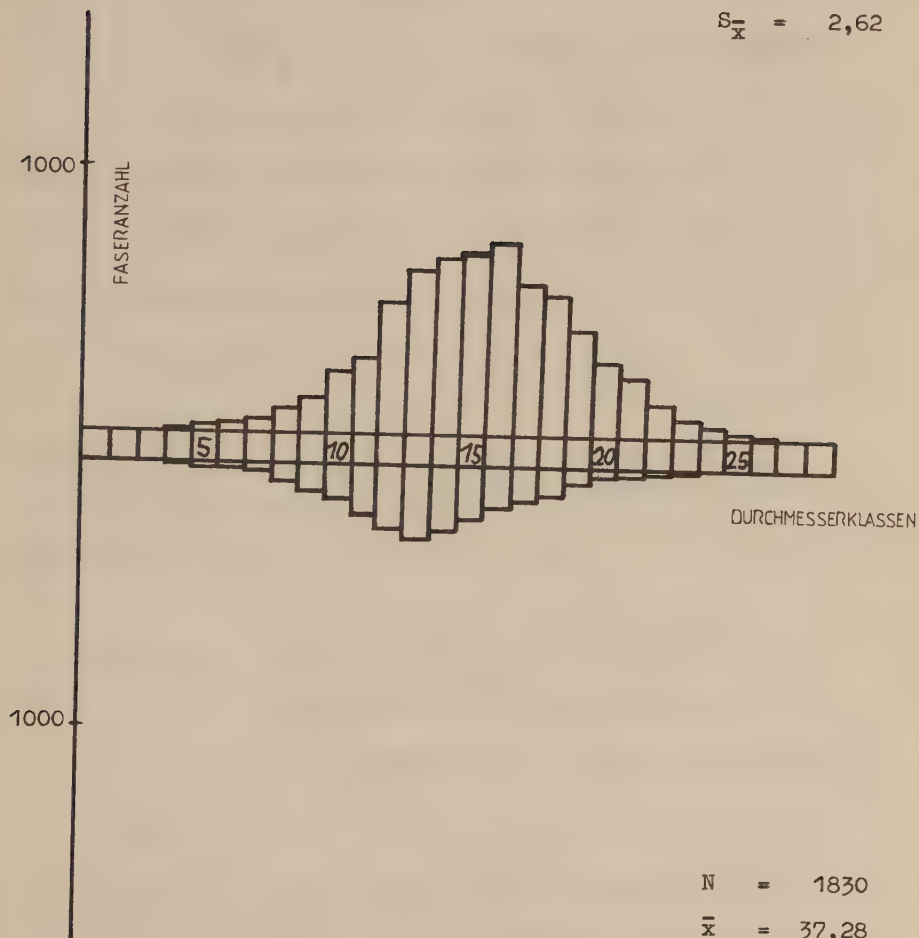
Gruppe IV , rechts

Typ I 76,9 %

$N = 5867$

$\bar{x} = 42,20$

$S_{\bar{x}} = 2,62$



Typ II 23,1 %

$N = 1830$

$\bar{x} = 37,28$

$S_{\bar{x}} = 2,29$

3.4. Muskelfaserrelation

Für jeden m. soleus wurde der prozentuale Anteil der Muskelfasern vom Typ I und II bestimmt.

Die Werte, die sich für die einzelnen Gruppen ergaben, zeigt der nachfolgende Überblick.

Gruppe	n	Links		Rechts		d%
		$\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$		$\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$		
		Typ I	Typ II	Typ I	Typ II	
I	21	74,46 $\pm 1,41$	25,54 $\pm 1,41$	59,44 $\pm 1,52$	40,56 $\pm 1,52$	15,02
II	19	80,41 $\pm 1,63$	19,59 $\pm 1,63$	61,00 $\pm 1,53$	39,00 $\pm 1,53$	19,41
III	15	80,13 $\pm 1,54$	19,87 $\pm 1,54$	63,59 $\pm 1,56$	36,41 $\pm 1,56$	16,54
IV	22	76,91 $\pm 1,18$	23,09 $\pm 1,18$	76,91 $\pm 1,18$	23,09 $\pm 1,18$	

Die Muskelfaserrelationen der rechten und linken Extremitäten der Gruppe IV (Nullkontrollgruppe) unterschieden sich nicht und wurden deshalb nicht getrennt aufgeführt.

n = Anzahl der Einzelwerte (Muskeln)

$\bar{x}$ = Mittelwert des prozentualen Anteils eines Fasertyps

$S_{\bar{x}}$ = Standardabweichung des Mittelwerts

$d\% = \bar{x}_{\text{Typ I, links}} - \bar{x}_{\text{Typ I, rechts}}$

Der m. soleus der verwendeten Ratten setzte sich aus Muskelfasern im Verhältnis 76,91/23,09 (Typ I/II) zusammen. Diese Relation wurde bei den Tieren der Nullkontrollgruppe IV (kein Gips, keine Elektrotherapie) ermittelt.

3.4.1. Auswirkung der Immobilisation

Der Einfluß der Immobilisierung auf die Relation, i.e. den prozentualen Anteil der beiden Muskelfasertypen wurde bei den Tieren der Gruppe III (Gips,keine Elektrotherapie) untersucht.

Im intraindividuellen Links-Rechts-Vergleich wurden statistisch hoch signifikante Unterschiede entdeckt. Der Muskel des rechten,immobilisierten Beines wies eine deutliche Verschiebung der Muskelfaserrelation auf. Gegenüber dem Muskel des kontralateralen Beines desselben Tieres ($80,13/19,87 \pm 1,54$) wurde bei diesem eine Abnahme der TypI-Fasern und eine Zunahme der TypII-Fasern von 16,54 % festgestellt ($63,59/36,41 \pm 1,56$). Die Relation der Muskelfasern des linken Beines der Gruppe III ($80,13/19,87 \pm 1,54$) war verglichen mit dem Verhältnis der beiden Muskelfasertypen der Beine der Nullkontrollgruppe IV ($76,91/23,09 \pm 1,18$) nicht signifikant verändert.

3.4.2. Einfluß der Schwellstromtherapie

Der Links-Rechts-Vergleich in der Gruppe I (Gips,Schwellstromtherapie) brachte ebenfalls statistisch hoch signifikante Ergebnisse. Hier unterschied sich die Muskelfaserrelation des rechten,immobilisierten,therapierten Beines ($59,44/40,56 \pm 1,52$) um 15,02 % vom kontralateralen, freien Bein desselben Tieres ($74,46/25,54 \pm 1,41$).

Diese relative Abnahme der TypI-Fasern ist in derselben Größenordnung wie der entsprechende Wert der Gipskontrollgruppe III. Dementsprechend war kein signifikanter Unter-

schied zwischen den Relationen des rechten Beines der Gruppe I ($59,44/40,56 \pm 1,52$) und des rechten Beines der Gruppe III ($63,59/36,41 \pm 1,56$) festzustellen.

3.4.3. Einfluß der Therapie mit galvanischem Strom

Um den Einfluß der Behandlung mit galvanischem Strom auf die Relation der zwei Fasertypen im Muskel des immobilisierten Beines zu bestimmen, wurde auch hier zunächst der intraindividuelle Links-Rechts-Vergleich gemacht. Das rechte, immobilisierte, therapierte Bein wies eine Muskelfaserrelation I/II von $61,00/39,00 \pm 1,53$ auf. Gegenüber dem kontralateralen Pendant ($80,41/19,59 \pm 1,63$) errechnet sich eine relative Abnahme des Muskelfasertyps I von 19,41 %.

Diese Verminderung ist aber verglichen mit dem Rückgang der TypI-Fasern der Gipskontrollgruppe III (16,54 %) nicht signifikant. Dies resultiert aus dem Vergleich der Werte der rechten Beine der Gruppe II ($61,00/39,00 \pm 1,53$) mit den Werten der rechten Beine der Gruppe III ($63,59/36,41 \pm 1,56$).

3.4.4. Zusammenfassung der Teilergebnisse

Zusammenfassend kann man feststellen, daß in den vorliegenden Versuchen durch die Immobilisierung der Anteil des Fasertyps I im m. soleus um 16,54 % abgenommen, bzw. der Anteil des Fasertyps II zugenommen hat.

Die Schwellstromtherapie (15,02 %) und die Behandlung mit galvanischem Strom (19,41 %) hatten aber keinen statistisch signifikanten Einfluß auf diese Veränderung.

3.4.5. Statistik

Darstellung der Mittelwertvergleiche verschiedener Gruppen anhand ihrer t - Werte(rechts oben) und p - Werte(links unten). Zur Erklärung der Begriffe siehe 2.6.

$\bar{x}^*$	74,46	59,44	80,41	61,00	80,13	63,59	76,91
$S_{\bar{x}}$	1,41	1,52	1,63	1,53	1,54	1,56	1,18
n	21	21	19	19	15	15	22
Gruppe	I		II		III		IV
Bein	li	re	li	re	li	re	li,re
I	li	7,2					0,8
	re	0,001				1,8	9,0
II	li			8,6			1,7
	re		0,001			1,1	8,2
III	li					7,5	1,6
	re		n.s.	n.s.	0,001		6,8
IV	li						
	re	n.s.	0,001	n.s.	0,001	n.s.	0,001

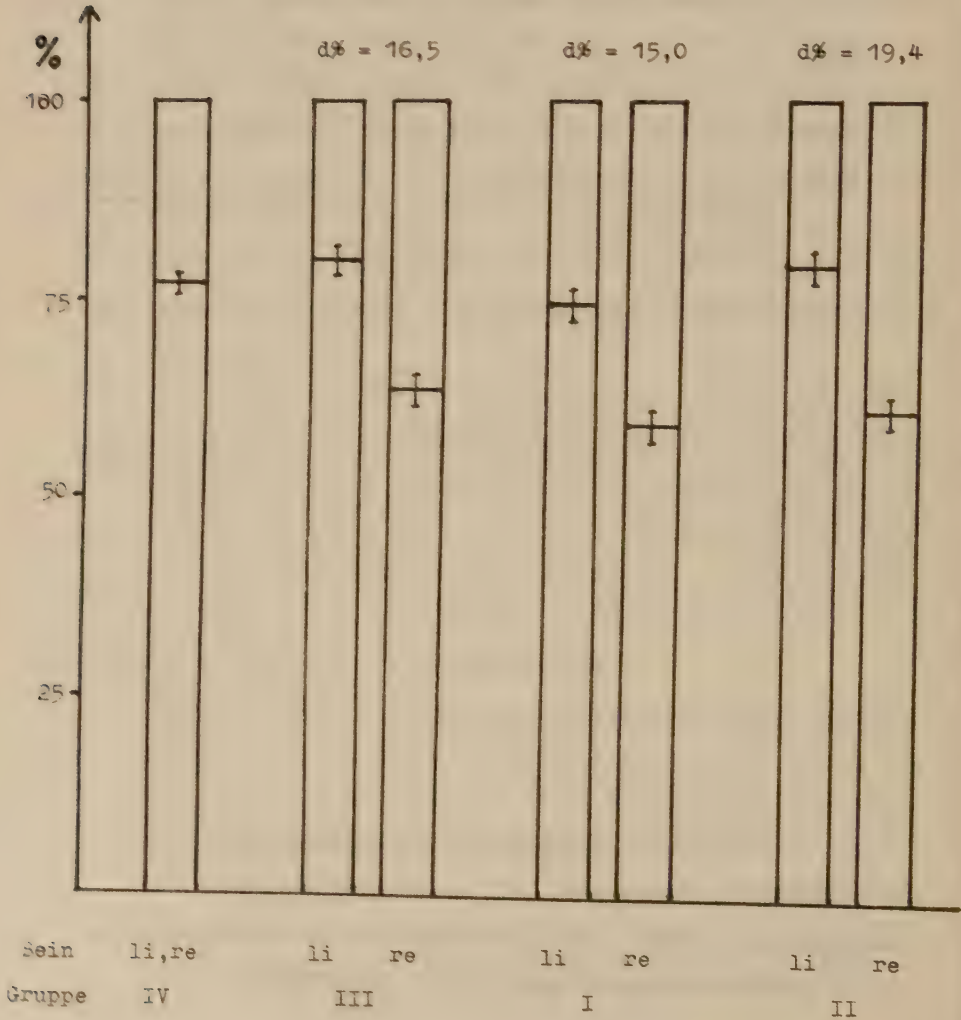
* Die aufgeführten Werte sind der Prozentsatz der Muskelfasern vom Typ I.

Zwischen den Werten der linken und rechten Extremität der Nullkontrollgruppe IV bestand kein Unterschied.

5.4.6. Graphische Darstellung

Abgebildet sind die Mittelwerte mit Standardabweichungen der 4 Gruppen, getrennt nach linkem und rechtem Bein.

Der untere Teil der Säule repräsentiert den Anteil der Typ I-Fasern, der obere den Anteil der Typ II-Fasern.



3.5. Kapillarisation

Der Wert der Kapillarisation drückt aus, wieviele Kapillaren eine Muskelfaser versorgen.

Die Ergebnisse der 4 Gruppen sind in der abgebildeten Übersicht zusammengefaßt.

Gruppe	n	Links		Rechts		d%
		$\bar{x}$	$S_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	$S_{\bar{x}}$	
I	18	2,14	0,06	1,63	0,05	- 24,0
II	16	2,17	0,08	1,65	0,06	- 24,1
III	14	2,05	0,06	1,57	0,05	- 23,5
IV	20	2,25	0,03	2,25	0,05	

Die Werte für die Kapillarisation der rechten und linken Extremitäten der Gruppe IV (Nullkontrollgruppe) unterscheiden sich nicht und wurden deshalb nicht getrennt aufgeführt.

n = Anzahl der Einzelwerte (ausgewertete Muskeln)

$\bar{x}$ = Mittelwert der Kapillarisation (Kapillaren/Muskelfaser)

$S_{\bar{x}}$ = Standardabweichung des Mittelwerts

$d\% = 100 \times \left(\frac{\bar{x}_{\text{rechts}}}{\bar{x}_{\text{links}}} - 1 \right)$ (relative Abnahme in Prozent)

Durchschnittlich 2,25 Kapillaren versorgten eine Muskelfaser des m. soleus der Versuchsratten.

Dieser Mittelwert der Kapillarisation wurde bei den Tieren der Nullkontrollgruppe IV festgestellt.

3.5.1. Auswirkung der Immobilisation

Die Ergebnisse der Gipskontrollgruppe III (Gips, keine Elektrotherapie) wurden zur Untersuchung des Einflusses der Immobilisation auf die Kapillarisierung des m. soleus herangezogen. Es zeigte sich, daß der Muskel der rechten, immobilisierten Extremität ($1,57 \pm 0,05$) deutlich geringer kapillarisiert war als sein kontralaterales Gegenüber ($2,05 \pm 0,06$). Der errechnete Unterschied betrug 23,5 % und war statistisch hoch signifikant. Weiterhin wurde der Vergleich der Kapillarisierung des m. soleus des linken Beines dieser Gipskontrollgruppe III ($2,05 \pm 0,06$) mit den Beinen der Nullkontrollgruppe IV ($2,25 \pm 0,03$) gemacht. Dieser ergab einen statistisch schwach signifikanten Unterschied.

3.5.2. Einfluß der Schwellstromtherapie

Um den Einfluß der Schwellstromtherapie auf die Kapillarisierung zu ermitteln, wurde bei den Tieren der Gruppe I zunächst der intraindividuelle Links-Rechts-Vergleich angestellt. Der m. soleus des rechten, immobilisierten, therapierten Beines ($1,63 \pm 0,05$) war gegenüber dem m. soleus des kontralateralen, freien Beines ($2,14 \pm 0,06$) um 24,0 % schlechter kapillarisiert. Diese Abnahme der Kapillarisierung ist statistisch hoch signifikant.

Außerdem wurde der Mittelwert der rechten Beine der Schwellstromgruppe I ($1,63 \pm 0,05$) mit dem der rechten Beine der Gipskontrollgruppe III ($1,57 \pm 0,05$) verglichen.

Der Unterschied ist statistisch nicht signifikant.

Ein dritter Vergleich zeigte, daß zwischen der Kapillarisierung des m. soleus des linken, freien Beines der Gruppe I ($2,14 \pm 0,06$) und der Kapillarisierung des m. soleus der Beine der Nullkontrollgruppe IV ($2,25 \pm 0,03$) kein statistisch signifikanter Unterschied besteht.

3.5.3. Einfluß der Therapie mit galvanischem Strom

Bei den Tieren der Gruppe II wurde für die Kapillarisierung des m. soleus des rechten, immobilisierten, therapierten Beines, bzw. des kontralateralen linken Beines ein Mittelwert von $1,65 \pm 0,6$, bzw. $2,17 \pm 0,08$ gefunden.

Aus diesen Zahlen wurde für das rechte Bein eine Verringerung der Kapillarisierung von 24,1 % errechnet.

Diese Abnahme ist hoch signifikant.

Weiter wurde festgestellt, daß die Kapillarisierung des m. soleus des rechten, immobilisierten, therapierten Beines der Gruppe II ($1,65 \pm 0,06$) gegenüber dem entsprechenden Wert des rechten, immobilisierten Beines der Gipskontrollgruppe III ($1,57 \pm 0,05$) geringfügig höher war. Der Unterschied erwies sich aber als nicht statistisch signifikant.

Schließlich wurde noch der Wert des linken, freien Beines der Gruppe II ($2,17 \pm 0,08$) mit dem der Beine der Nullkontrollgruppe IV ($2,25 \pm 0,03$) verglichen.

Im Gegensatz zum statistischen Resultat des analogen Vergleichs bei Gruppe III (siehe 3.5.1.) und in Übereinstimmung mit dem statistischen Resultat des analogen Vergleichs bei Gruppe I (siehe 3.5.2.) ergab sich kein signifikanter Unterschied.

1. Die Milch der Kühe, die in der Milchfabrikation verwendet werden,

1.1. Die Milch der Kühe, die in der Milchfabrikation verwendet werden,

1.2. Die Milch der Kühe, die in der Milchfabrikation verwendet werden,

1.3. Die Milch der Kühe, die in der Milchfabrikation verwendet werden,

2) Die Milch der Kühe, die in der Milchfabrikation verwendet werden,

3) Die Milch der Kühe, die in der Milchfabrikation verwendet werden,

3.5.5. Statistik

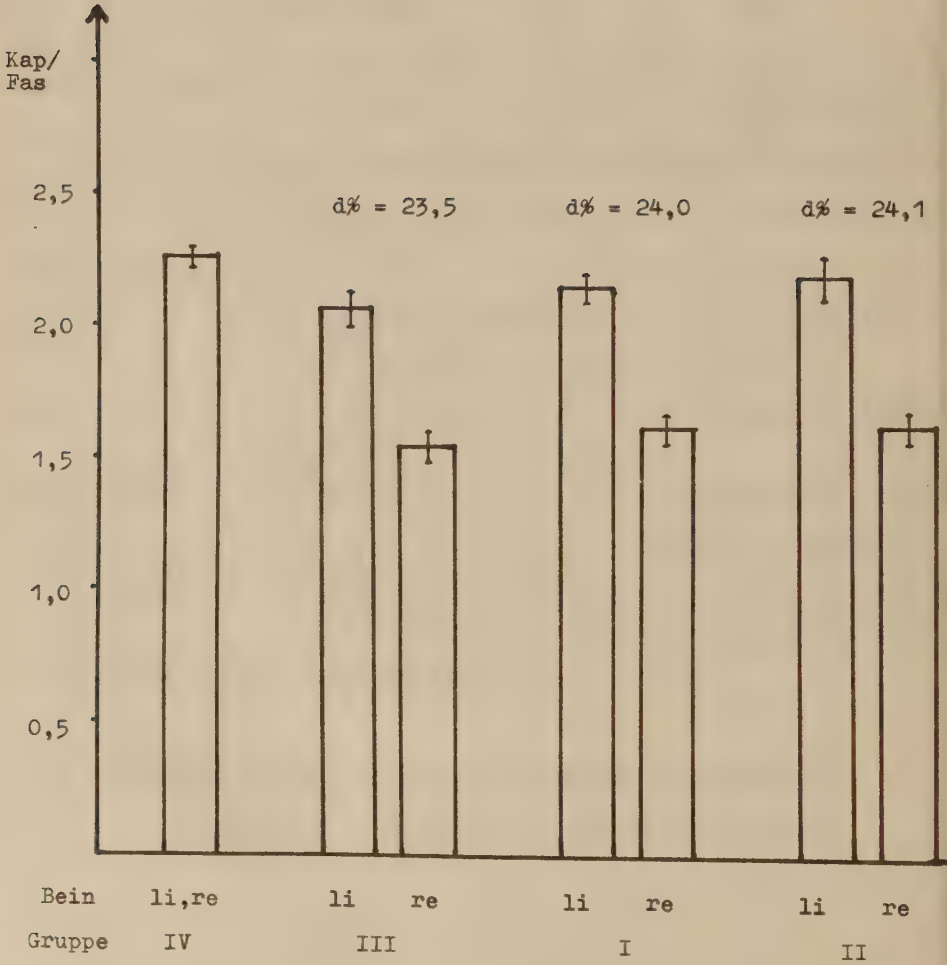
Darstellung der Mittelwertvergleiche verschiedener Gruppen anhand ihrer t - Werte(rechts oben) und p - Werte(links unten)
Zur Erklärung der Begriffe siehe 2.6.

$\bar{x}$	2,13	1,62	2,17	1,64	2,05	1,56	2,25
$S_{\bar{x}}$	0,05	0,05	0,08	0,06	0,06	0,05	0,03
n	18	18	16	16	14	14	20
Gruppe	I		II		III		IV
Bein	li	re	li	re	li	re	li,re
I	li	6,4					1,7
	re	0,001				0,7	10,1
II	li		5,1				0,9
	re		0,001			0,9	9,0
III	li					5,8	2,8
	re	n.s.	n.s.	0,001			11,3
IV	li	n.s.	0,001	n.s.	0,001	0,05	0,001
	re						

Zwischen den Werten der linken und rechten Extremität der Nullkontrollgruppe IV bestand kein Unterschied.

3.5.6. Graphische Darstellung

Abgebildet sind die Mittelwerte mit Standardabweichungen der 4 Gruppen, getrennt nach linkem und rechtem Bein.



3.6. Kapillardichte

Der Wert der Kapillardichte ist die Anzahl von Kapillaren auf einem Quadratmillimeter Muskelfläche.

Die Mittelwerte, die sich für die einzelnen Gruppen ergaben, zeigt getrennt nach linker und rechter Extremität, die folgende Tabelle.

Gruppe	n	Links		Rechts		d%
		$\bar{x}$	$S_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	$S_{\bar{x}}$	
I	18	706,8	22,5	1064,6	43,6	+ 50,6
II	16	724,9	39,1	1170,3	42,6	+ 61,4
III	14	681,3	24,1	1016,4	33,8	+ 49,2
IV	20	716,9	25,0	716,9	25,0	

Die Werte für die Kapillardichte der rechten und linken Extremitäten der Gruppe IV (Nullkontrollgruppe) unterschieden sich nicht und wurden deshalb nicht getrennt aufgeführt.

n = Anzahl der Einzelwerte (ausgewertete Muskeln)

$\bar{x}$ = Mittelwert der Kapillardichte (Kapillaren/mm²)

$S_{\bar{x}}$ = Standardabweichung des Mittelwerts

$d\% = 100 \times \left(\frac{\bar{x}_{\text{rechts}}}{\bar{x}_{\text{links}}} - 1 \right)$ (relative Zunahme in Prozent)

Der Querschnitt des m. soleus der verwendeten Versuchstiere besitzt eine Kapillardichte von $716,9 \pm 25,0$ Kapillaren/mm². Dieser Mittelwert wurde bei den Tieren der Nullkontrollgruppe IV (kein Gips, keine Elektrotherapie) gefunden.

3.6.1. Auswirkung der Immobilisation

Der Einfluß der Immobilisation der hinteren Extremität auf die Kapillardichte des m. soleus wurde bei den Tieren der Gruppe III (Gips, keine Elektrotherapie) untersucht. Hierzu wurde die Kapillardichte des rechten, immobilisierten Beines mit der Kapillardichte des kontralateralen Beines desselben Tieres verglichen (Intraindividueller Links-Rechts-Vergleich). Der m. soleus des rechten Beines wies mit $1016,4 \pm 33,8$ Kap./mm² einen um 49,2 % höheren Wert als sein kontralateraler Pendant mit $681,3 \pm 24,1$ Kap./mm² auf. Diese Zunahme war statistisch hoch signifikant. Die Kapillardichte des linken, freien Beines der Gipskontrollgruppe III ($681,3 \pm 24,1$) und die der Beine der Nullkontrollgruppe IV ($716,9 \pm 25,0$) unterschieden sich nicht statistisch signifikant voneinander.

3.6.2. Einfluß der Schwellstromtherapie

Der Links-Rechts-Vergleich brachte auch in der Gruppe I (Gips, Schwellstromtherapie) einen statistisch hoch signifikanten Unterschied. Denn hier nahm die Kapillardichte des m. soleus des rechten, immobilisierten und therapierten Beines ($1064,6 \pm 43,6$) um 50,6 % verglichen mit der Kapillardichte des m. soleus des linken, freien Beines ($706,8 \pm 22,5$) zu. Diese relative Erhöhung der Kapillardichte entspricht etwa den Verhältnissen in der Gipskontrollgruppe III.

In Übereinstimmung mit diesem Ergebnis wurde kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen der Kapillardichte des rechten Beines der Gruppe I ($1064,6 \pm 43,6$) und des

rechten Beines der Gipskontrollgruppe III ($1016,4 \pm 33,8$) gefunden.

3.6.3. Einfluß der Therapie mit galvanischem Strom

Um den Einfluß der Behandlung mit galvanischem Strom auf die Kapillardichte zu bestimmen, wurde bei den Tieren der Gruppe II zunächst der intraindividuelle Links-Rechts-Vergleich gemacht. Die Kapillardichte des m. soleus des rechten, immobilisierten und therapierten Beines betrug $1170,3 \pm 42,6$. Gegenüber seinem kontralateralen Pendant ($724,9 \pm 39,1$) wurde eine Zunahme der Kapillardichte von 61,4 % ermittelt. Dieser Anstieg war deutlich höher als die Zunahme, die im entsprechenden Vergleich der Gipskontrollgruppe III ($49,2 \%$) gefunden wurde.

Dementsprechend zeigte der Vergleich zwischen der Kapillardichte des m. soleus des rechten Beines der Gruppe II ($1170,3 \pm 42,6$) und des rechten Beines der Gipskontrollgruppe III ($1016,4 \pm 33,8$) einen statistisch signifikanten Unterschied.

3.6.4. Zusammenfassung der Teilergebnisse

Die hinsichtlich der Kapillardichte erhaltenen Ergebnisse zeigen:

- 1) Die Kapillardichte des m. soleus der immobilisierten hinteren Extremität hat statistisch hoch signifikant zugenommen.
- 2) Die Therapie mit Schwellstrom hat keinen statistisch signifikanten Einfluß auf die durch Immobilisation erzeugte Zunahme der Kapillardichte.
- 3) Die Behandlung mit galvanischem Strom steigert statistisch signifikant die durch Immobilisation erzeugte Zunahme der Kapillardichte.

3.6.5. Statistik

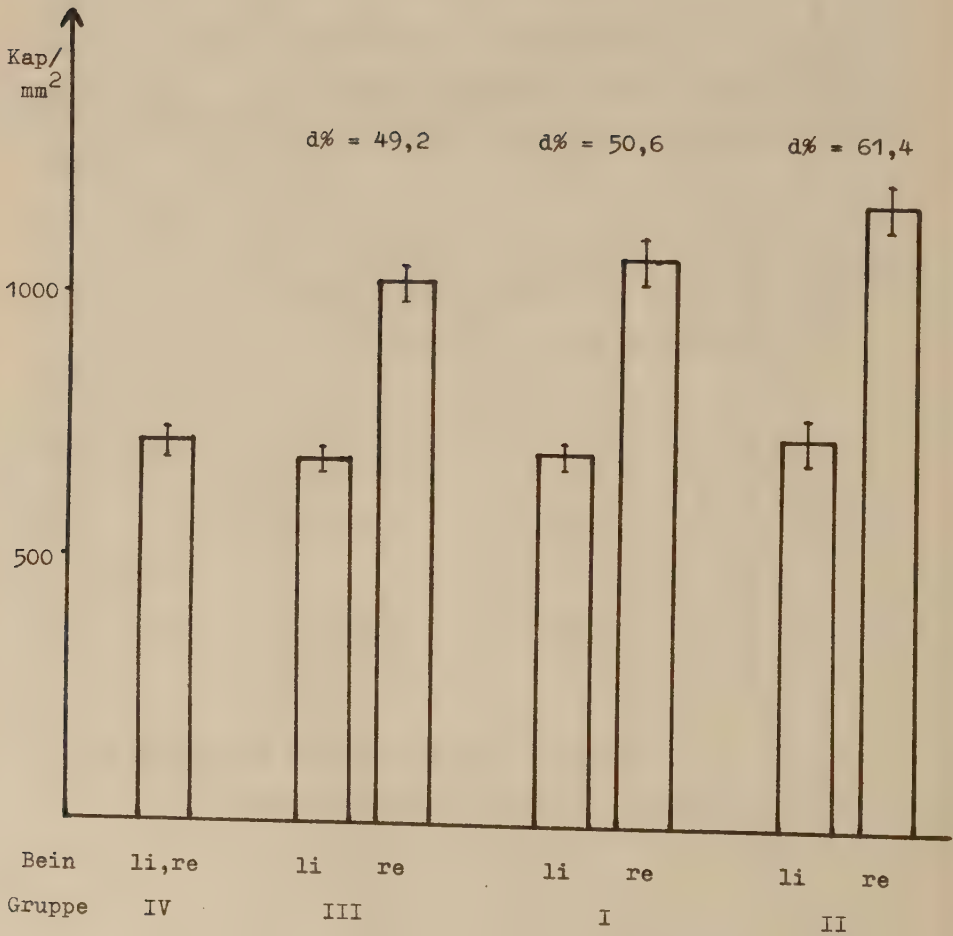
Darstellung der Mittelwertvergleiche verschiedener Gruppen anhand ihrer t - werte(rechts oben) und p - Werte(links unten). Zur Erklärung der Begriffe siehe 2.6.

	$\bar{x}$	706,8	1064,6	724,9	1170,3	681,3	1016,4	716,9
	$S_{\bar{x}}$	22,5	43,6	39,1	42,6	24,1	33,8	25,0
	n	18	18	16	16	14	14	20
Gruppe		I		II		III		IV
Bein		li	re	li	re	li	re	li,re
I	li		7,2					0,2
	re	0,001					0,8	7,0
II	li				7,6			0,1
	re			0,001			2,7	9,5
III	li						8,0	0,9
	re		n.s.		0,01!	0,001		7,2
IV	li							
	re	n.s.	0,001	n.s.	0,001	n.s.	0,001	

Zwischen den Werten der linken und rechten Extremität der Nullkontrollgruppe IV bestand kein Unterschied.

3.6.6. Graphische Darstellung

Abgebildet sind die Mittelwerte mit Standardabweichungen der 4 Gruppen, getrennt nach linkem und rechtem Bein.



4. Diskussion

Ranvier hat schon 1873 die Muskulatur des Kaninchenbeines in "rote" und "weiße" Muskeln unterteilt und auf deren unterschiedliche morphologischen und physiologischen Merkmale hingewiesen (72). Er äußerte auch die Vermutung, daß die farbliche Verschiedenheit der Muskeln nicht auf einer besonders großen, bzw. kleinen, im Muskel zirkulierenden Blutmenge beruht, sondern seine Ursache in den Muskelfasern selbst findet.

Heute ist es eine unbestrittene Tatsache, daß sich hinsichtlich ihrer Physiologie, Morphologie und ihres Metabolismus prinzipiell zwei unterschiedliche Muskelfasertypen gegenüberstehen.

Der "rote" Fasertyp ist reich an Myoglobin, deckt seinen Energiebedarf vorwiegend oxidativ, kontrahiert relativ langsam und ausdauernd (tonisch) und ermüdet kaum. Er besitzt eine niedrige ATP ase-Aktivität und ist ausgeprägt mit Blutgefäßen versorgt.

Der "weiße" Fasertyp hat nur wenig Myoglobin, besitzt zusätzlich über die anaerobe Glykolyse eine beträchtliche Energiequelle, kontrahiert relativ schnell (phasisch) und ermüdet vergleichsweise rascher. Er besitzt eine hohe ATP ase-Aktivität und ist nur in geringerem Maße mit Blutgefäßen ausgestattet.

Das genannte histochemische Kriterium führte zur derzeit gebräuchlichsten Muskelfasereinteilung (21).

Diese Klassifizierung in Typ I (niedrige ATP ase-Aktivität) und Typ II (hohe ATP ase-Aktivität) wurde auch in der vorliegenden Untersuchung verwendet.

Die meisten Muskeln enthalten sowohl Muskelfasern vom Typ I, als auch Muskelfasern vom Typ II. Das Mischungsverhältnis eines Muskels hängt von seiner anatomischen Position und funktionellen Aufgabe ab.

Antischwerkraft- bzw. Haltemuskeln, die tief in einer Muskelgruppe lokalisiert sind, haben einen höheren Beitrag an tonischen, langsamen Typ I-Fasern. Die oberflächlich lokalisierten Muskeln, die vor allem zur raschen Bewegung der Extremitäten dienen, setzen sich vornehmlich aus phasischen, schnellen Typ II-Fasern zusammen. Diese Wechselbeziehung gilt sowohl für die Ratte (3), als auch für den Menschen(18).

Durch einen Immobilisationsverband werden in erster Linie die zur Haltearbeit verwendeten tonischen, "roten" Muskeln, bzw. Muskelfasern, von ihrer funktionellen Aufgabe weitgehend befreit.

In der vorliegenden Arbeit wurde deshalb am Beispiel eines klassisch "roten" Muskels, dem m. soleus der Ratte, der Frage nachgegangen, ob die durch eine dreiwöchige Immobilisation hervorgerufene Schädigung der Muskulatur mit Hilfe gleichzeitig angewandter Elektrotherapie verhindert, bzw. verringert, werden kann.

Die zusammenfassende Betrachtung der Untersuchungsergebnisse erfolgt mit zwei Zielsetzungen:

- 1) Es soll die Auswirkung der Immobilisation auf den m. soleus anhand der Parameter Muskelgewicht, Muskelfaserdurchmesser, Muskelfasertyprelation, Kapillarisierung und Kapillardichte klargemacht werden.

- 2) Eine Aussage über die Wirksamkeit der
 - a) niederfrequenten Schwellstromtherapie
 - und b) Gleichstromtherapie als Vorbeugunggegen die unter 1) beschriebenen Veränderungen wird angestrebt.

Ad 1) Der in der vorliegenden Untersuchung entwickelte und angewandte stabile Pflaster-Kunststoffverband erzeugte eine schon makroskopisch eindrucksvolle Atrophie des m. soleus der hinteren Rattenextremität.

Zur objektiven Quantifizierung der Muskelatrophie wurden das Muskelgewicht und der Muskelfaserdurchmesser bestimmt. Als Vergleichsgrößen für das atrophiierte Bein boten sich zwei Möglichkeiten an. Viele Autoren benutzten in früheren Arbeiten das kontralaterale, nicht immobilisierte Bein desselben Tieres als interne Kontrolle (19,24, 60,70). Andere Autoren beschrieben eine kompensatorische Hypertrophie des kontralateralen Beines (7) oder gar eine konsensuelle Atrophie des kontralateralen, nicht immobilisierten Beines (91) und zogen als Bezugsgröße für die Atrophie deshalb den Muskel eines unbehandelten Tieres heran. Unsere Ergebnisse brachten keinen Hinweis auf das Vorhandensein einer kompensatorischen Hypertrophie oder konsensuellen Atrophie des kontralateralen Beines und erlaubten somit dessen Benutzung als Kontrolle.

Der Vergleich des Muskelgewichts des kontralateralen, nicht immobilisierten Beines mit dem Muskelgewicht des immobilisierten Beines zeigt eine hochgradige Atrophie von 52,8%. Der Verlust dieser Muskelmasse ist nicht verbunden mit einer Abnahme der Muskelfaseranzahl (7,11,eigene Stichproben).

Er resultiert gänzlich aus einem Schwund der Muskelfaserstärke. Dieser ist eine Folge der Verschiebung des Gleichgewichts des Eiweißstoffwechsels, einer Änderung des Gleichgewichts zwischen anabolen und katabolen Prozessen zugunsten der letzteren (36).

Das Ausmaß der Atrophie war bei den beiden Muskelfasertypen unterschiedlich stark ausgeprägt. In Übereinstimmung mit den Ergebnissen zahlreicher anderer tierexperimenteller Arbeiten(13,19,23,48,57,58,90,93) zeigte auch unsere Untersuchung eine vermehrte Atrophie der tonischen Typ I-Fasern. Dies beruht auf der Tatsache, daß durch die Immobilisation die tonischen Muskelfasern ihre typische Haltefunktion verlieren.

Was die Auswirkung der Extremitätenimmobilisation auf die menschlichen Muskelfasern anbelangt, sind gegensätzliche Ergebnisse veröffentlicht worden. Edström und Sargeant fanden eine stärkere Atrophie der Typ I-Fasern (20,80), Engel & Brooke beobachteten dagegen einen höheren Atrophiegrad der Typ II-Fasern(22). Diese Studien wurden mit Patienten gemacht, deren Extremitäten wegen unterschiedlichen Verletzungen immobilisiert werden mußten. Deshalb können die Ergebnisse dieser Untersuchungen weder untereinander, noch mit tierexperimentellen Befunden gesunder, immobilisierter Extremitäten ohne weiteres verglichen werden.

Interessanterweise wurde durch die Immobilisation der Rattenextremität nicht nur eine starke Verkleinerung der beiden Muskelfaserdurchmesser, sondern auch eine deutliche Verschiebung der Muskelfasertypenrelation erzeugt.

Der Anteil der Typ II-Fasern, die für den m. soleus untypisch sind, vergrößerte sich im immobilisierten Muskel beträchtlich. Ähnliche Ergebnisse sind für den immobilisierten m. soleus der Ratte auch von anderen Autoren beschrieben worden(5,39). Da die absolute Anzahl der Muskelfasern sich nicht veränderte, kommen für die Erklärung dieser Beobachtung nur zwei Hypothesen in Frage. Die eine erklärt die prozentuale Verschiebung mit einer Transformation von Typ I-Fasern in Typ II-Fasern, die andere mit einer Degeneration, bzw. Nekrose, der Typ I-Fasern und einem simultanen Wachstum von neuen Typ II-Fasern. Für die letzte Hypothese konnten in der vorliegenden Arbeit keine morphologischen Hinweise gefunden werden.

Die relative Zunahme von Typ II-Fasern mit ihrer hohen ATP ase-Aktivität korrespondiert mit der Verkürzung der Kontraktionszeit des m. soleus nach mehrwöchiger Immobilisation(14,24,59,79,91,92).

Diese Veränderungen der histochemischen und physiologischen Eigenschaften bedeuten einen Wandel des immobilisierten m. soleus vom langsamen, tonischen in Richtung schnellen, phasischen Muskel.

Die Bedeutung des Motoneurons bei der Immobilisation des m. soleus der Ratte wurde von Fischbach & Robbins untersucht. Sie fanden eine Abnahme der Gesamt-EMG-Aktivität auf 10% des Ausgangswerts und eine Veränderung des Entladungsmusters vom tonischen zum mehr phasischen Typ(24). Diese Ergebnisse stützen die Annahme, daß letztendlich

die Aktivität des Motoneurons für die Veränderung der Muskelfasereigenschaften verantwortlich sein könnte (9,49, 54,55). Zudem könnte eine veränderte Aktivität des Motoneurons einen Mechanismus für die Transformation der Muskelfasern darstellen.

Zwischen dem Mischungsverhältnis der beiden Muskelfasertypen eines Muskels und dessen Gefäßversorgung besteht ein direkter Zusammenhang. Die Typ I-Fasern sind auf Grund ihres hohen Bedarfs an Sauerstoff zur Versorgung ihres oxidativen Stoffwechsels von der etwa doppelten Anzahl an Kapillaren wie die Typ II-Fasern umgeben. Ein Muskel ist deshalb um so besser mit Kapillaren ausgestattet, je höher sein Anteil an Typ I-Fasern ist (1,53,64,65,73,76,89). Der Zusammenhang zwischen der oxidativen Kapazität der Muskelfasern und der Kapillarversorgung des Muskels ist durch physiologische Experimente bestätigt worden.

Hilton stellte fest, daß ein "roter", tonischer Muskel mit seinem kennzeichnenden hohen Sauerstoffverbrauch (m. soleus der Katze) eine zwei- bis dreifach höhere maximale Durchblutungskapazität als ein "weißer", phasischer Muskel besitzt (m. gastrocnemius der Katze)(44,45).

Die Kapillarversorgung einer Muskelfaser hängt außer vom Fasertyp noch zusätzlich von der Faserdicke ab.

Plyley & Groom fanden eine annähernd lineare Korrelation zwischen dem Durchmesser einer Muskelfaser und der Anzahl an Kapillaren, die diese Muskelfaser umgeben (71).

Myrhae bestätigte diese Ergebnisse, fügte aber hinzu,

daß für den Grad der Kapillarisierung einer Muskelfaser dessen oxidative Kapazität in einem höheren Maß als dessen Durchmesser bestimmend zu sein scheint (64).

In der vorliegenden Untersuchung waren beide Parameter im immobilisierten m. soleus hoch signifikant verändert. Die Abnahme des Muskelfaserdurchmesser einerseits, und die Zunahme der schwach kapillarisierten Muskelfasern vom Typ II mit vorwiegend anaerobem, glykolytischem Stoffwechsel andererseits, scheinen für die gefundene Verminderung der Kapillarisierung des immobilisierten m. soleus verantwortlich zu sein.

Der Wert der Kapillarisierung (Kapillaren/Fasern) fiel von 2,05 im kontralateralen Muskel auf 1,57 im immobilisierten Muskel. Da die zur Kapillardarstellung angewandte Färbungsmethode alle Endothelzellen im Muskelquerschnitt erfaßt, also von funktionellen Gegebenheiten der Mikrozirkulation unabhängig ist, handelt es sich bei der beschriebenen Dezimierung der Kapillaren offensichtlich um eine morphologische Veränderung.

Trotz der deutlich verringerten Kapillarisierung des m. soleus des immobilisierten Beines, ist dessen Kapillardichte (Kapillaren/mm²) klar erhöht. Die Zunahme dieses Gefäßparameters von 681,3 auf 1016,4 ist ausschließlich eine Folge der starken Atrophie der immobilisierten Muskulatur. Durch die Verschmälерung der Muskelfasern wird eine Schrumpfung des Gefäßnetzwerkes bewirkt. Dadurch werden mehr Kapillaren auf die definierte Muskelquerschnittsfläche von einem Quadratmillimeter gezogen, obwohl zugleich die Anzahl der Kapillaren, die eine Mus-

kelfaser durchschnittlich versorgen, abgenommen hat. Die Abhängigkeit des Gefäßparameters Kapillardichte vom Atrophiegrad des Muskels beschränkt seine Aussagekraft über die Gefäßversorgung atrophierter Muskeln (Abb. 14). Studien, die den Einfluß der Extremitätenimmobilisation auf die Kapillarisation und Kapillardichte menschlicher Muskeln untersucht haben, sind unseres Wissens noch nicht gemacht worden. Vermutlich dürfte hierbei die schwierige Gewinnung von Biopsiematerial eine wesentliche Rolle spielen.

Ad 2) Die durch einen Immobilisationsverband verursachte Muskelatrophie und Störung der Blutzirkulation wird gegenwärtig erst nach Entfernung des Verbandes, meist in Form von Elektrotherapie und Krankengymnastik, behandelt. Analog der Forderung von Gutmann(35) und Edel(17), mit der Elektrotherapie so früh wie möglich zu beginnen, wurde in der vorliegenden Arbeit untersucht, ob elektrische Reizstromtherapie in der Lage ist, die Schädigung der immobilisierten Muskulatur zu verhindern, bzw. zu verringern, wenn sie von Beginn der Immobilisation an eingesetzt wird. Die Applikation des Reizstroms erfolgte transkutan über zwei feuchte Viskoseschwämmchen und entsprach somit weitgehend der bipolaren Behandlungstechnik in der Humanmedizin. An der immobilisierten, hinteren Rattenextremität kamen zwei Arten der Reizstromtherapie, niederfrequente Schwellstromtherapie(30Hz) und Gleichstromtherapie, zur Anwendung. Beide Therapiearten haben eine bedeutende Stellung in der heutigen physikalischen Medizin.

Niederfrequenter Schwellstrom wird hauptsächlich bei Inaktivitätsatrophien, Gleichstrom bei peripheren Durchblutungsstörungen eingesetzt.

Niederfrequenter Schwellstrom (30 Hz)

Normal innervierte Skelettmuskulatur spricht auf Impulse relativ kurzer Dauer und relativ rascher Frequenzen an. Ab Impulsfrequenzen von etwa 20 Hz verschmelzen die Einzelzuckungen zu einer tetanischen Kontraktion der Muskelfasern (82).

Zur elektrischen Übungsbehandlung von normal innervierten Muskeln hat es sich als vorteilhaft erwiesen, tetanisierende Impulsfolgen erstens nicht dauernd, sondern periodisch und zweitens nicht mit gleichbleibender Intensität, sondern in geschwellter Form, d.h. mit an- und absteigend modulierter Intensität, zu verabfolgen.

Ein so gestalteter Niederfrequenzstrom wird als Schwellstrom bezeichnet und die durchgeführte Therapie als Schwellstrombehandlung.

Der von uns benutzte Schwellstrom war gekennzeichnet durch eine Impulsfrequenz von 30 Hz. Die maximale Stromstärke betrug ein Milliampere. In der vorliegenden Untersuchung waren diese beiden Werte geeignet, tetanische Kontraktionen der Wadenmuskulatur auszulösen, ohne den Tieren dabei Schmerzen zuzufügen. Die Kontraktion der Wadenmuskulatur wurde anhand einer minimalen Plantarflexion der Phalangen sichtbar und wurde auf diese Weise kontrolliert.

In unserer tierexperimentellen Studie konnte der Atrophieverlauf des m. soleus der immobilisierten, hinteren Rattenextremität durch die gleichzeitige Applikation von Schwellstrom nicht im Sinne einer Verzögerung beeinflusst werden. Die Parameter Muskelgewicht, Muskelfaserdurchmesser und Muskelfaserrelation wichen nicht von den Werten der Gipskontrollgruppe ab.

Zur Erklärung dieser Ergebnisse müssen verschiedene Aspekte betrachtet werden.

Nach Ansicht einiger Autoren ist die Wirkung der Elektrophtherapie proportional der Länge der täglichen Stimulation (34,86,94). Demgemäß wäre es denkbar, daß der fragliche atrophieverzögernde Effekt der Schwellstromtherapie nicht zur Geltung kam, weil die gewählte, tägliche Applikationsdauer von 30 Minuten zu kurz war, um den durch den Immobilisationsverband ausgeübten, enormen Atrophiedruck wenigstens teilweise zu kompensieren.

Eine andere Erklärung für den ausgebliebenen Behandlungserfolg könnte mit der, an der klinischen Praxis orientierten, transkutanen Applikationsweise des Schwellstroms zusammenhängen. Bei dieser Behandlungstechnik läßt sich nur schwer feststellen, in welchem Ausmaß die indirekte oder direkte Reizung der Muskulatur für die erfolgte Kontraktion verantwortlich ist. Die indirekte Reizung, i.e. die Auslösung der Muskelkontraktion durch eine Stimulierung des zugehörigen, motorischen Nerven, führt zu einer synchronen Zuckung aller zum betreffenden Muskel gehörenden Muskelfasern.

Im Gegensatz dazu sind bei der direkten Reizung die einzelnen Muskelfasern selbst das erregbare Substrat. Sobald eine

bestimmte Reizschwelle überschritten wird, kontrahiert sich die Muskelfaser. Da die Stromdichte mit wachsendem Abstand von der Elektrode abnimmt, werden bei gerade überschwelligen Reizen am ehesten die elektrodennahen, also oberflächlich gelegenen Muskelfasern erregt, während die tiefergelegenen unerregt bleiben.

Bei Annahme einer überwiegend direkten Reizung der Muskulatur in der vorliegenden Arbeit wäre es leicht denkbar, daß die Stromdichte nicht ausreichend war, um die Reizschwelle einiger oder aller Fasern des sehr tiefgelegenen m. soleus zu überschreiten. Da eine deutliche, ausreichend kräftige Kontraktion des Muskels für einen Therapieerfolg notwendig ist(17), wäre dies eine plausible Erklärung für den nicht gefundenen, atrophieverzögernden Effekt der Schwellstromtherapie. Die als Kontraktionskontrolle beobachtete, dezente Plantarflexion des Rattenfußes wäre in diesem Fall hauptsächlich durch die oberflächlich gelegenen Synergisten des m. soleus, dem m. gastrocnemius und dem m. plantaris, erzeugt worden. Diese Vermutung wird erhärtet durch die Ergebnisse einer Untersuchung von Magyarosy, der einen atrophieverzögernden Effekt der transkutan applizierten, niederfrequenten Schwellstromtherapie beim m. gastrocnemius des immobilisierten Rattenbeines beschrieb (56). Die Aufgabe einer folgenden Studie sollte es sein, festzustellen, welche Unterschenkelmuskel in welchem Ausmaß an der durch transkutane Schwellstromapplikation ausgelösten Plantarflexion des Rattenfußes beteiligt sind. Dies könnte zum Beispiel mit Hilfe von selektiven, biomechanischen Messungen erfolgen.

Neben dem Einfluß der niederfrequenten Schwellstromtherapie auf die Muskelatrophie wurde in der vorliegenden Arbeit auch deren Wirkung auf die Gefäßversorgung des m. soleus des immobilisierten Rattenbeines untersucht.

Die Kapillarisation der Skelettmuskulatur besitzt eine große Bedeutung, da in den Blutkapillaren die für die Muskelarbeit notwendigen Stoffe, insbesondere Sauerstoff, herangeschafft werden. Der Sauerstoffverbrauch und die Durchblutung der Muskulatur hängen in außerordentlichem Maß von deren Aktivitätsgrad ab. Bei starker Arbeit kann der Skelettmuskel seine Durchblutung bis auf den 50fachen Wert der Ruhedurchblutung steigern (84).

Es ist bekannt, daß die transkutane Schwellstromtherapie ebenfalls die Durchblutung der Muskulatur verbessert (17, 83). Dies ist aber erst dann der Fall, wenn der applizierte Schwellstrom eine Intensität erreicht, die ausreichend ist, um motorische Muskelreaktionen auszulösen (83). Aus diesem Grund handelt es sich bei der durch Schwellstromtherapie erzeugten Durchblutungssteigerung vielmehr um eine sogenannte Arbeitshyperämie.

Die Frage, ob in unseren Versuchen während der Schwellstromapplikation eine Durchblutungssteigerung des m. soleus erfolgte, kann nicht beantwortet werden, da eine hierfür erforderliche Kontraktion des Muskels methodisch nicht erfaßt wurde.

Die Ergebnisse an Tieren, die mit Schwellstrom therapiert wurden, zeigen - bezüglich der Kapillarisation und Kapillardichte ihres m. soleus - keine Abweichung von den Werten, die bei den Tieren der Gipskontrollgruppe gefunden wurden. Der transkutan applizierte, niederfrequente Schwellstrom konnte somit in unserer Untersuchung die Abnahme der Gefäßversorgung des m. soleus des immobilisierten Rattenbeines nicht verlangsamen.

Gleichstrom

Im Gegensatz zur Schwellstromtherapie, bei der die Erzeugung einer Muskelkontraktion für den Behandlungserfolg eine "conditio sine qua non" ist, tritt eine motorische Reaktion der Muskulatur bei der galvanischen Strombehandlung nicht auf. Allenfalls starke und schnelle Schwankungen der Stromintensität können unerwünschte Zuckungen der Muskulatur hervorrufen. Eine richtige Anwendung der Gleichstromtherapie soll dies verhindern. So kann durch einminütiges Einschleichen bis zum Erreichen der therapeutischen Stromstärke zu Beginn, bzw. durch einminütiges Ausschleichen am Ende der Behandlungszeit, die sogenannte Stromöffnungs-, bzw. Stromschließungszuckung vermieden werden. Während der Therapie-dauer wird die Stromstärke auf einem konstanten Niveau gehalten.

Als Höchstwert der Stromstärke für die Gleichstrombehandlung wird in der Humanmedizin eine Intensität angewandt, die als "sensibel schwellig" bezeichnet wird (28). Dabei kommt es zum subjektiven Gefühl des "Prickelns".

Da die Muskelentladung auf elektrischer Stimulation in verschiedenen experimentellen Untersuchungen nicht möglich war, wurden wir bei der Festlegung der Versuchsgleichstromstromstärke auf andere Kennzeichen angewiesen.

Einerseits hatten wir beobachtet, daß die Tiere bei Stromschritten einen bestimmten Stromschmerz empfinden, welcher zu werden und interpretiert werden als Folge eines unregelmäßigen elektrischen Stromschmerz.

Andererseits bemerkten wir bei unregelmäßigen Stromschritten von verschiedenen Stromstärken.

Die Anwendung einer Stromintensität von 100 mA verursachte keine der beiden Muskelentladungsvorgänge und stellte somit die erste Grenze der Versuchsgleichstrom dar.

Die Förderung der Muskelentladung ist allgemein als eine der wesentlichsten Wirkungen der galvanischen Strombehandlung.

Das Ausmaß dieses Effekts wird in der Literatur unterschiedlich beurteilt.

Wille zeigte mittels physiologischer Untersuchungen eine Steigerung der Muskeldurchblutung bis zu 300% der Ruhe durchblutung (42,43). Gennep hingegen stellte mit Hilfe venenverschlußplethysmographischer Messungen nur einen geringen Durchblutungsanstieg der Muskulatur fest, obwohl Stromintensitäten, nahe an der Versuchsgleichstromstärke, appliziert wurden (63).

Die Wirkung des Gleichstroms auf die Muskelentladung ist - anders als rein Zuckungen - nicht an eine muskuläre Muskelreaktion gebunden. Insbesondere kann ein

noch nicht vollständig geklärter Einfluß der Gleichstromstimulation auf die vasomotorischen Nervenfasern für die Durchblutungszunahme verantwortlich.

Anhand der verwendeten Methodik konnte in der vorliegenden Arbeit nicht beurteilt werden, ob, und wenn ja, in welchem Maß eine Steigerung der Durchblutung während der 30minütigen Therapiedauer tatsächlich auftrat.

In unseren histochemisch gefärbten Muskelschnitten wurde keine unterschiedlich starke Abnahme der Gefäßversorgung, sowohl der therapierten, als auch der nicht therapierten Muskelfasern des immobilisierten m. soleus gefunden.

Der Wert der Kapillarisierung verringerte sich in beiden Fällen um etwa ein Viertel.

Dieses Ergebnis zeigt, daß durch die Gleichstromstimulation keine, zumindest morphologisch faßbare, Verbesserung der Durchblutungssituation der Muskelfaser erreicht werden konnte.

Demgegenüber erscheint es unvereinbar, daß die Behandlung mit galvanischem Strom die durch Immobilisation erzeugte Zunahme der Kapillardichte signifikant steigerte. Hierbei handelt es sich jedoch um das mathematische Resultat aus der Verknüpfung zweier Einzeleffekte.

Da der Wert der Kapillardichte zum einen direkt proportional zur Kapillarisierung, zum anderen umgekehrt proportional zur Faserfläche ist, wird er von diesen beiden Faktoren bestimmt. In unserem Fall war bei den therapierten Tieren der Wert der Kapillarisierung unerheblich größer, der Wert der Muskelfaserdurchmesser geringfügig kleiner als bei den untherapierten Tieren der Gipskontrollgruppe. Beide statistisch unauffälligen Differenzen

werden zu einem statistisch signifikanten Unterschied der Kapillardichte multipliziert.

Aus diesem Grund bringt die zusätzliche Betrachtung des Wertes der Kapillardichte keine relevanten Erkenntnisse. Überhaupt erscheint der Parameter Kapillardichte, vor allem wegen seiner direkten Abhängigkeit vom Grad der Muskelatrophie, zur Beurteilung der Gefäßversorgung atrophiierter Muskeln ungeeignet (Abb. 14).

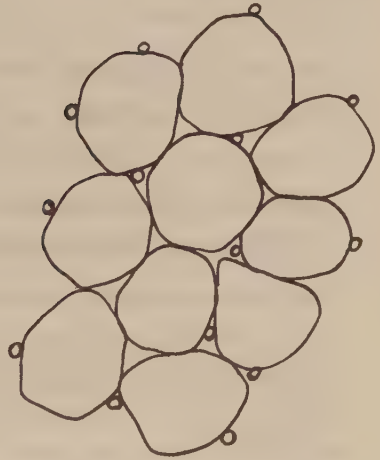
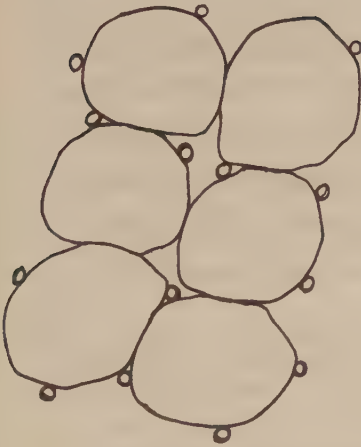
Bei künftigen Arbeiten über atrophierte Muskulatur und dessen Gefäßversorgung sollte deshalb die Berücksichtigung der Parameter Muskelfaserdurchmesser, Muskelfaserrelation und Kapillarisierung zur Beurteilung des Sachverhalts ausreichend sein.

Die Übertragbarkeit der Ergebnisse des Tierversuchs auf die durch einen Immobilisationsverband erzeugte Schädigung der menschlichen Muskulatur ist nur bedingt möglich. Gewiß waren in der vorliegenden Arbeit die Versuchsbedingungen so eng wie möglich an der Praxis der Humanmedizin orientiert. Dies bezieht sich besonders auf die Relation Gips- / Körpergewicht, transkutane und bipolare Stromapplikation und die Anwendung einer Stromintensität unter der Verträglichkeitsgrenze.

Andererseits können bestimmte Unterschiede, z.B. Stromdurchflutung, Gewebsmasse, cerebrale Verarbeitung, nicht adäquat berücksichtigt werden. Zudem erfolgt die Immobilisation der menschlichen Extremität auf Grund einer vorangegangenen Verletzung, wodurch häufig komplizierte Verhältnisse bedingt sind.

Kontrollmuskel

Immobilisierter Muskel



40 μ

6

14

2,3

14

Faserdurchmesser

Faseranzahl

Kapillaren

Kapillarisierung
(Kapillaren/Faser)

Kapillardichte
(Kapillaren/Fläche)

30 μ

10

14

1,4

14

Abb. 14 : Anhand dieses erfundenen Beispiels soll die Aussagekraft der Kapillarisierung und der Kapillardichte demonstriert werden.

Beim immobilisierten Muskel haben die Muskelfaserdurchmesser und die Kapillarisierung abgenommen. Trotzdem verändert sich der Wert der Kapillardichte nicht, weil durch die Atrophie das gesamte Gefäßnetzwerk schrumpft und deshalb vermehrt Kapillaren auf eine definierte Grundfläche gezogen werden. Die Betrachtung der Kapillardichte bringt somit keine zusätzliche Erkenntnis.

5. Zusammenfassung

- 1) In der vorliegenden Arbeit wurde in tierexperimentellen Versuchen der Frage nachgegangen, ob der durch eine Extremitätenimmobilisation erzeugte, schädigende Einfluß auf die Muskulatur durch eine gleichzeitige, transkutan applizierte Elektrotherapie - angewandt wurden Gleichstrom und niederfrequenter Schwellstrom - aufgehoben, bzw. verringert werden kann.

Zu diesem Zweck wurden 69 männliche Ratten in 4 Gruppen aufgeteilt:

Gruppe I : Immobilisation und gleichzeitige Schwellstrombehandlung

Gruppe II : Immobilisation und gleichzeitige Gleichstromtherapie

Gruppe III: Immobilisation, keine Elektrotherapie

Gruppe IV : Keine Immobilisation, keine Elektrotherapie

Behandelt wurde jeweils die rechte hintere Extremität, die linke diente als interne Kontrolle.

- 2) Nach Beendigung des dreiwöchigen Versuchsprogramms wurde bei allen Tieren der klassisch "rote" m. soleus aus beiden Hinterextremitäten entnommen, dessen Gewicht ermittelt und für die zu einem späteren Zeitpunkt erfolgte histochemische Aufarbeitung konserviert.

Zu diesem Zweck wurde die Methode der Schnellgefrierung mit flüssigem Stickstoff angewandt.

- 3) Eine modifizierte ATP ase-Färbung nach Dubowitz & Brooke (pH = 9,8) ermöglichte die Darstellung der Muskelfasern und deren Unterteilung in Typ I (niedrige ATP ase-Aktivität) und Typ II (hohe ATP ase-Aktivität).
Mit Hilfe der ATP ase-Färbung nach Sillau & Banchemo (pH = 3,8) konnten selektiv die Kapillaren angefärbt werden.
- 4) Anhand von Photographien von den gefärbten Muskelpräparaten wurden die Parameter Faserdurchmesser und -verteilung, Kapillarisierung (Kapillaren/Faser) und Kapillardichte (Kapillaren/mm²) bestimmt.
- 5) Die Ergebnisse zeigen, daß die durch den verwendeten Pflaster-Kunststoffverband verursachte Immobilisation der Extremität eine hoch signifikante Atrophie des m. soleus bewirkte. Dabei atrophierte der Muskelfasertyp I stärker als der Muskelfasertyp II.
Die Muskelfaserrelation Typ I/Typ II verschob sich im atrophierten Muskel deutlich zugunsten von Muskelfasertyp II, was einen Wandel des m. soleus vom "roten" Muskel in Richtung "weißen" Muskel bedeutet.
- 6) Die Gefäßversorgung der Muskelfasern im atrophierten m. soleus war hoch signifikant verringert.
Trotz dieser verminderten Kapillarisierung war der Wert der Kapillardichte klar erhöht. Die Zunahme dieses Parameters ist ausschließlich eine Folge der durch die starke Atrophie verursachten Schrumpfung des Gefäßnetzwerkes.

- 7) Auf die genannten morphologischen Veränderungen des m. soleus des immobilisierten Beines hatte weder die Schwellstromtherapie, noch die Gleichstrombehandlung einen protektiven Einfluß.
- 8) Für die Erklärung des ausgebliebenen Behandlungserfolgs kommen in erster Linie eine zu kurze tägliche Therapiedauer (30 min.) oder eine zu geringe Stromintensität in der Tiefe der Wadenmuskulatur in Frage.

6. Anhang

6.1. Einzeldaten der Tiere

6.1.1. Muskelgewicht (in mg)

Gruppe I			Gruppe II			Gruppe III		
Tier	li	re	Tier	li	re	Tier	li	re
1	135	85	8	112	55	3	110	65
2	120	55	10	110	75	7	115	56
4	135	60	11	120	70	13	100	75
6	103	50	15	100	45	20	100	40
12	70	40	16	110	50	24	122	65
19	120	50	17	100	50	25	128	65
21	140	56	27	139	68	31	130	45
22	120	68	28	110	70	35	82	40
23	155	75	29	100	40	43	122	58
33	140	52	32	135	70	44	142	68
38	112	45	36	112	38	54	100	55
45	118	38	39	90	38	65	95	45
49	128	50	40	108	49	66	110	40
50	108	76	41	125	45	67	115	40
51	115	60	42	80	40	68	110	35
55	140	75	48	120	50			
56	92	40	57	120	50			
61	120	50	58	115	55			
62	105	60	59	130	70			
63	85	60						
64	100	55						

Gruppe IV		
Tier	li	re
5	-	143
9	-	138
14	-	100
18	-	150
26	-	100
30	-	126
34	130	140
37	102	115
46	115	125
47	100	98
52	115	105
53	115	115
60	115	115
69	115	98

Anmerkung:

Bei den ersten sechs Tieren der Gruppe IV wurde nur jeweils der rechte m. soleus entnommen.

6.1.2. Muskelfaserdurchmesser (in Mikrometer)

Gruppe I

Tier	links		rechts	
	Typ I	Typ II	Typ I	Typ II
1	48,63 +0,65	40,25 +0,76	27,15 +0,34	29,53 +0,35
2	42,40 +0,35	34,34 +0,55	28,28 +0,19	29,61 +0,23
4	45,73 +0,46	40,74 +0,76	28,54 +0,27	28,71 +0,32
6	45,27 +0,41	40,05 +0,78	31,33 +0,24	33,59 +0,31
12	39,49 +0,38	32,30 +0,50	23,34 +0,17	24,20 +0,17
19	42,51 +0,41	37,40 +0,67	26,30 +0,23	22,36 +0,22
21	47,07 +0,59	39,68 +0,86	33,49 +0,39	34,27 +0,61
22	47,47 +0,50	36,73 +0,99	28,88 +0,29	27,99 +0,34
23	45,30 +0,53	36,89 +0,58	30,03 +0,30	26,17 +0,37
33	48,50 +0,47	38,51 +0,76	30,78 +0,37	31,05 +0,38
38	39,22 +0,37	33,89 +0,65	26,00 +0,20	23,84 +0,20
45	41,13 +0,41	36,46 +0,85	20,20 +0,19	20,97 +0,19
49	43,27 +0,20	35,09 +0,52	23,09 +0,28	23,60 +0,23
50	48,19 +0,72	42,14 +0,82	34,83 +0,32	32,68 +0,42
51	35,17 +0,35	30,67 +0,36	22,89 +0,26	21,98 +0,19
55	41,40 +0,50	34,79 +0,55	29,83 +0,23	24,75 +0,27
56	48,33 +0,40	40,87 +0,75	30,09 +0,31	29,32 +0,32
61	43,08 +0,50	35,00 +0,55	27,92 +0,24	24,07 +0,25
62	42,66 +0,51	32,00 +0,56	30,33 +0,29	26,67 +0,29
63	42,74 +0,42	33,03 +0,64	29,15 +0,25	29,77 +0,36
64	36,37 +0,40	30,92 +0,43	27,02 +0,22	22,38 +0,26

Gruppe II

Tier	links		rechts	
	Typ I	Typ II	Typ I	Typ II
8	36,56 +0,32	30,88 +0,73	25,28 +0,21	28,36 +0,23
10	44,64 +0,44	40,67 +0,72	26,04 +0,22	28,62 +0,29
11	48,09 +0,51	47,64 +0,66	27,55 +0,28	29,40 +0,35
15	37,59 +0,38	31,31 +0,60	28,67 +0,25	28,56 +0,29
16	39,91 +0,33	33,21 +0,58	23,78 +0,20	23,30 +0,32
17	40,53 +0,43	32,78 +0,62	23,07 +0,26	24,09 +0,24
27	53,41 +0,55	46,29 +0,79	28,72 +0,30	29,18 +0,30
28	41,49 +0,39	35,17 +0,79	29,25 +0,27	30,25 +0,34
29	40,46 +0,40	35,79 +0,73	23,13 +0,27	26,71 +0,38
32	46,71 +0,57	37,99 +0,63	25,24 +0,15	23,09 +0,16
36	42,50 +0,44	36,14 +0,60	23,79 +0,23	23,26 +0,31
39	49,07 +0,44	37,52 +0,69	24,45 +0,28	24,08 +0,23
40	44,79 +0,43	37,48 +0,69	23,35 +0,17	20,15 +0,22
41	35,03 +0,40	25,79 +0,63	28,73 +0,23	28,69 +0,27
42	40,54 +0,44	31,27 +0,77	25,97 +0,21	26,39 +0,22
48	40,62 +0,40	35,40 +0,94	28,49 +0,28	28,18 +0,29
57	46,92 +0,58	41,84 +0,55	27,91 +0,23	27,43 +0,31
58	45,83 +0,48	43,32 +0,25	27,08 +0,26	27,75 +0,26
59	37,89 +0,39	32,03 +0,55	33,92 +0,33	28,17 +0,37

Gruppe III

Tier	links				rechts			
	Typ I		Typ II		Typ I		Typ II	
	$\bar{x}$	$S_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	$S_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	$S_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	$S_{\bar{x}}$
3	43,48	0,47	40,29	0,78	30,40	0,31	33,86	0,31
7	50,77	0,55	40,25	0,74	27,05	0,21	26,92	0,25
13	37,23	0,34	30,21	0,51	23,79	0,20	23,01	0,24
20	43,90	0,46	35,18	0,96	19,59	0,21	17,63	0,23
24	49,46	0,59	36,70	0,88	32,31	0,31	31,54	0,44
25	42,54	0,40	35,33	0,78	30,51	0,29	31,71	0,41
31	49,03	0,43	42,16	0,77	36,17	0,39	33,87	0,47
35	32,97	0,26	27,66	1,17	25,33	0,16	25,47	0,19
43	50,68	0,47	42,17	0,82	30,92	0,20	31,31	0,31
44	49,29	0,52	38,25	0,62	35,78	0,36	35,19	0,48
54	43,74	0,40	41,00	0,59	26,80	0,26	27,55	0,26
65	42,94	0,49	35,45	0,52	29,83	0,38	28,00	0,32
66	41,08	0,46	34,35	0,73	31,03	0,27	27,69	0,32
67	45,89	0,44	37,64	0,69	28,31	0,28	27,72	0,34
68	44,37	0,51	34,06	0,70	31,07	0,29	26,57	0,31

Gruppe IV

Tier	links				rechts			
	Typ I		Typ II		Typ I		Typ II	
	$\bar{x}$	$S_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	$S_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	$S_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	$S_{\bar{x}}$
5	-	-	-	-	45,20	0,33	40,09	0,62
9	-	-	-	-	39,44	0,36	36,66	0,60
14	-	-	-	-	35,28	0,40	29,86	0,51
18	-	-	-	-	35,37	0,34	32,81	0,50
26	-	-	-	-	45,15	0,47	38,92	0,79
30	-	-	-	-	45,74	0,45	39,22	0,88
34	40,80	0,45	32,86	0,74	45,73	0,56	41,40	1,02
37	40,64	0,36	34,14	0,75	41,49	0,41	33,17	0,65
46	50,70	0,57	41,19	0,69	37,17	0,39	33,01	0,43
47	44,69	0,45	37,57	0,36	49,28	0,51	44,93	0,91
52	47,80	0,45	44,81	0,91	45,92	0,56	45,87	0,75
53	39,08	0,37	34,58	0,61	42,72	0,40	39,30	0,61
60	49,55	0,54	39,70	0,75	45,29	0,58	38,53	0,58
69	42,29	0,43	36,36	0,59	44,36	0,49	40,41	0,57

Anmerkung :

Bei den ersten sechs Tieren der Gruppe IV wurde nur jeweils der rechte m. soleus entnommen.

6.1.3. Muskelfaserrelation (in %)

Tier	<u>Gruppe I</u>		<u>Gruppe I</u>	
	links		rechts	
	Typ I	Typ II	Typ I	Typ II
1	72,83	27,17	57,64	42,36
2	74,11	25,89	60,60	39,40
4	81,30	18,70	62,01	37,99
6	77,55	22,45	66,82	33,18
12	67,95	32,05	58,14	41,86
19	73,19	26,81	59,98	40,02
21	76,20	23,80	64,19	35,81
22	84,11	15,89	66,05	33,95
23	63,64	36,36	65,31	34,69
33	74,68	25,32	55,18	44,82
38	86,26	13,74	63,11	36,89
45	84,20	15,80	51,45	48,55
49	68,25	31,75	41,37	58,63
50	74,88	25,11	66,05	33,95
51	66,71	33,29	45,27	54,73
55	74,73	25,27	65,56	34,44
56	83,27	16,73	50,96	49,04
61	65,76	34,24	59,95	40,05
62	68,71	31,29	63,20	36,80
63	72,80	27,20	61,70	38,30
64	72,57	27,43	63,78	36,22

Tier	<u>Gruppe II</u>		<u>Gruppe II</u>	
	links		rechts	
	Typ I	Typ II	Typ I	Typ II
8	85,84	14,16	56,86	43,14
10	75,57	24,43	65,08	34,92
11	79,02	20,98	62,08	37,92
15	78,78	21,22	60,82	39,19
16	84,53	15,47	69,70	30,30
17	67,85	32,15	53,32	46,68
27	75,00	25,00	47,95	52,05
28	84,54	15,46	57,61	42,39
29	79,25	20,75	68,66	31,34
32	74,84	25,16	58,82	41,18
36	77,67	22,33	68,92	31,08
39	90,73	9,27	48,04	51,96
40	81,87	18,13	70,30	29,70
41	82,32	17,68	62,67	37,33
42	86,75	13,25	59,55	40,45
48	92,87	7,13	55,74	44,26
57	66,02	33,98	63,25	36,75
58	88,28	11,72	62,63	37,37
59	76,15	23,85	67,04	32,96

Tier	<u>Gruppe III</u>			
	links		rechts	
	Typ I	Typ II	Typ I	Typ II
3	79,23	20,77	50,88	49,12
7	72,20	27,80	58,22	41,78
13	78,99	21,01	69,24	30,76
20	89,68	10,32	70,57	29,43
24	78,65	21,35	69,20	30,80
25	83,70	16,30	67,63	32,37
31	86,02	13,98	63,17	36,83
35	89,31	10,69	65,87	34,13
43	85,19	14,81	58,18	41,82
44	73,15	26,85	64,18	35,82
54	70,60	29,40	53,92	46,08
65	73,60	26,40	61,37	38,63
66	80,86	19,14	70,88	29,12
67	79,22	20,78	64,93	35,07
68	81,55	18,45	65,65	34,35

Tier	<u>Gruppe IV</u>			
	links		rechts	
	Typ I	Typ II	Typ I	Typ II
5	-	-	79,85	20,15
9	-	-	84,98	15,02
14	-	-	66,98	33,02
18	-	-	80,61	19,39
26	-	-	78,00	22,00
30	-	-	78,19	21,81
34	76,99	23,01	78,42	21,58
37	86,70	13,30	80,46	19,54
46	71,96	28,04	67,23	32,77
47	75,49	24,51	80,70	19,30
52	84,14	15,86	77,89	22,11
53	77,54	22,46	77,35	22,65
60	72,93	27,07	69,74	30,26
69	78,74	21,26	67,15	32,85

Anmerkung:

Bei den ersten sechs Tieren der Gruppe IV wurde nur jeweils der rechte m. soleus entnommen.

6.1.4. Kapillarisierung

6.1.5. Kapillardichte

Gruppe I

Tier Bein Kap./Bild Faser/Bild Kapillarisier. Kapillardichte

1	l	297	132	2,25	696
	r	317	180	1,76	743
2	l	326	149	2,19	764
	r	394	240	1,64	924
4	l	265	117	2,26	619
	r	515	283	1,82	1207
12	l	335	180	1,86	785
	r	568	458	1,24	1331
19	l	320	156	2,05	750
	r	526	365	1,44	1233
21	l	331	141	2,35	776
	r	336	211	1,59	788
22	l	330	143	2,31	774
	r	508	258	1,97	1191
23	l	278	114	2,44	652
	r	380	225	1,69	891
33	l	215	119	1,81	504
	r	420	282	1,49	984
38	l	271	174	1,56	635
	r	424	299	1,42	994
49	l	302	154	1,96	708
	r	496	290	1,71	1163
50	l	241	98	2,46	565
	r	458	215	2,13	1074
55	l	271	128	2,12	635
	r	499	322	1,55	1170
56	l	329	149	2,21	771
	r	358	240	1,49	839
61	l	327	140	2,34	766
	r	602	318	1,89	1411
62	l	269	146	1,84	631
	r	431	282	1,53	1010
63	l	366	155	2,36	858
	r	443	279	1,59	1038
64	l	356	166	2,14	834
	r	500	375	1,33	1172

Gruppe II

Tier Bein Kap./Bild Faser/Bild Kapillarisier. Kapillardichte

8	l	302	130	2,32	708
	r	545	389	1,40	1277
10	l	200	122	1,64	469
	r	488	334	1,46	1143
11	l	263	110	2,39	616
	r	552	277	1,99	1294
15	l	301	144	2,09	706
	r	498	387	1,29	1167
16	l	368	157	2,34	863
	r	471	316	1,49	1104
17	l	367	169	2,17	860
	r	602	355	1,69	1411
27	l	220	106	2,07	516
	r	458	306	1,50	1074
29	l	255	158	1,61	598
	r	370	264	1,40	867
39	l	293	131	2,34	687
	r	519	350	1,48	1217
40	l	220	142	1,55	516
	r	559	371	1,50	1310
41	l	327	145	2,26	766
	r	492	266	1,86	1153
42	l	384	162	2,37	900
	r	495	249	1,99	1160
48	l	336	139	2,42	788
	r	554	282	1,96	1299
57	l	448	184	2,43	1050
	r	610	397	1,54	1430
58	l	338	127	2,66	792
	r	370	197	1,88	867
59	l	326	154	2,12	764
	r	406	206	1,97	952

Gruppe III

Tier	Bein	Kap./Bild	Faser/Bild	Kapillarisierung	Kapillardichte
3	l	294	160	1,84	689
	r	379	211	1,80	888
7	l	260	140	1,86	609
	r	429	304	1,41	1006
20	l	289	122	2,37	677
	r	361	252	1,43	846
24	l	334	176	1,88	782
	r	482	307	1,57	1131
25	l	248	110	2,25	580
	r	432	265	1,63	1012
31	l	289	146	1,98	678
	r	460	308	1,49	1080
35	l	289	185	1,56	677
	r	298	279	1,07	699
43	l	296	142	2,08	793
	r	486	293	1,66	1139
44	l	336	165	2,04	788
	r	467	243	1,92	1094
54	l	332	151	2,20	778
	r	488	291	1,68	1144
65	l	234	113	2,07	548
	r	445	275	1,62	1043
66	l	327	169	1,93	766
	r	430	283	1,52	1008
67	l	270	114	2,37	633
	r	465	314	1,48	1090
68	l	231	101	2,29	541
	r	448	267	1,68	1050

Gruppe IV

Tier	Bein	Kap./Bild	Faser/Bild	Kapillarisier.	Kapillardichte
5	l	-	-	-	-
	r	322	141	2,28	755
9	l	-	-	-	-
	r	361	167	2,16	846
18	l	-	-	-	-
	r	405	182	2,23	949
26	l	-	-	-	-
	r	250	104	2,40	586
30	l	-	-	-	-
	r	331	133	2,49	776
34	l	249	134	1,86	584
	r	273	134	2,03	640
37	l	308	140	2,20	722
	r	377	164	2,30	884
46	l	272	124	2,19	638
	r	-	-	-	-
47	l	250	113	2,21	586
	r	242	105	2,31	567
52	l	320	140	2,29	750
	r	339	136	2,49	795
53	l	333	139	2,39	781
	r	288	123	2,34	675
60	l	352	153	2,30	825
	r	281	131	2,14	659
69	l	317	137	2,31	743
	r	246	116	2,12	577

Anmerkung:

Bei den ersten sechs Tieren der Gruppe IV wurde nur jeweils der rechte m. soleus entnommen.

7. Literaturübersicht

- 1.) Andersen, P. Capillary density in skeletal muscle of man.
Acta physiol. scand. 95, 203-205 (1975)
- 2.) Appell, H.-J. Zur Faserzusammensetzung und Kapillarsversorgung besonders beanspruchter Muskeln
Dissertation, Sporthochschule Köln (1977)
- 3.) Ariano, M.A. Hindlimb muscle fibre populations of five mammals.
Armstrong, R.B. J.Histochem. Cytochem. 21, 51-55 (1973)
Edgerton, V.R.
- 4.) Booth, F.W. Production of rat muscle atrophy by cast fixation.
Kelso, J.R. J.Appl. Physiol. 34(3), 404-406 (1973)
- 5.) Booth, F.W. Effect of hindlimb immobilization on contractile and histochemical properties of skeletal muscle.
Kelso, J.R. Pflügers Arch. 361, 231-238 (1973)
- 6.) Booth, F.W. Time course of muscular atrophy during immobilization of hindlimbs in rats.
J.Appl. Physiol. 43(4), 656-661 (1977)
- 7.) Boyes, G. Muscle fibre composition of rat vastus intermedius following immobilization at different muscle lengths
Johnston, I.
- 8.) Brooke, M.H. Muscle fiber types : How many and what kind ?
Kaiser, K.K. Arch. Neurol. 23, 369-379 (1970)
- 9.) Brown, M.D. The effects of different patterns of muscle activity on capillary density, mechanical properties and structure of slow and fast muscles.
Cotter, M.A. Pflügers Arch. 361, 241-250 (1976)
Hudlicka, O.
Vrbova, G.
- 10.) Burke, R.E. Mammalian moto units: Physiological - histochemical correlation in three types
Levine, D.N. in cat gastrocnemius.
Zajac, F.E. Science 174, 709-712 (1971)
Tsairis, P.
Engel, W.K.
- 11.) Cardenas, D.D. Muscle fiber number in immobilization atrophy.
Stolov, W.C. Arch. Phys. Med. Rehabil. 58, 423-426 (1977)
Hardy, R.
- 12.) Chiasson, R.B. Laboratory anatomy of the white rat.
Verlag W.M.C. Brown company publishes
- 13.) Cooper, R.R. Alterations during immobilization and regenerations of skeletal muscle in cats.
J. Bone & Jt. Surg. 54A, 919. (1972)
- 14.) Crockett, J.L. Exercise and restricted activity effects on reinnervated and cross-innervated skeletal muscles.
Edgerton, V.R. J. Neurol. Sci. 25, 1-9 (1975)

- 29.) Glick,D. Histochemical localization of adenosine-triphosphatase.
Science 103,599 (1946)
- 30.) Goldspink,D.F. Changes in the size and protein turnover of the soleus muscle in response to immobilization or denervation.
Biochemical Society Transactions, 576th Meeting,London 1978
- 31.) Gray,S.D. Microvascular supply in relation to fiber metabolic type in mixed skeletal muscles of rabbits.
Renkin,E.M. Microvascular Research 16,406-425 (1978)
- 32.) Guth,L. Qualitative differences between actomyosin ATPase of slow and fast mammalian muscle.
Samaha,F.J. Experimental Neurology 25,138-152 (1969)
- 33.) Guth,L. Procedure for the histochemical demonstration of actomyosin ATPase.
Samaha,F.J. Experimental Neurology 28,365-367 (1970)
- 34.) Gutmann,E. The effect of galvanic exercise of denervated and re-innervated muscles in the rabbit.
Guttmann,L. J.Neurol.Neurosurg.Psychiat.7,7-17 (1944)
- 35.) Gutmann,E. The denervated muscle.
Publishing House of the Czechoslovak Academy of Sciences, Prag (1962)
- 36.) Gutmann,E. Denervation and disuse atrophy of skeletal muscle.
Ärztliche Forschung, Jg.23 Heft 2 (1969)
- 37.) Hebel The anatomy of the laboratory rat.
Verlag : Williams and Wilkins
- 38.) Henneman,E. Relations between structure and function in the design of skeletal muscles.
Olson,C.B. J.Neurophysiol. 28,581-598 (1965)
- 39.) Herbison,G.J. Muscle fiber atrophy after cast immobilization in the rat.
Jaweed,M.M. Arch.Phys.Med.Rehabil. 59,301-305 (1978)
Ditunno,J.F.
- 40.) Herbison,G.J. Muscle atrophy in rats following denervation, casting,inflammation,and tenotomy.
Jaweed,M.M. Arch.Phys.Med.Rehabil. 60,401-404 (1979)
Ditunno,J.F.
- 41.) Hermansen,L. Capillary density of skeletal muscle in well-trained and untrained men.
Wachlova,M. J.appl.Physiol. 30,860-863 (1971)
- 42.) Hille,H. Arch.Phys.Ther.(Lpz) 15 (1963),445.
- 43.) Hille,H. Therapiewoche 15 (1965),171.
- 44.) Hilton,S.M. The search for the cause of functional hyperaemia in skeletal muscle.
In: Circulation in skeletal muscle, Ed.by O.Hudlicka.Pergamon Press,Oxford 1968.137-140.

- 45.) Hilton,S.M.
Jeffries,M.G.
Vrbova,G. Functional specializations of the vascular bed of soleus.
J.Physiol. 206,543-562 (1970)
- 46.) James,N.T. Histochemical demonstration of myoglobin in skeletal muscle fibres and muscle spindles.
Nature 216,1174-1175 (1968)
- 47.) Jerusalem,F. Muskelerkrankungen.
Thieme, Stuttgart (1979)
- 48.) Karpati,G.
Engel,W.K. Correlative histochemical study of skeletal muscle after supra segmental denervation, peripheral nerve section, and skeletal fixation.
Neurology (Minneap.) 18,681-692 (1968)
- 49.) Kidd,G.
Brodie,S. The motor unit: A review.
Physiotherapy 66,146-152 (1980)
- 50.) Kleditzsch,J.
Lange,A. Die muskelstimulierende Wirkung von Nieder- und Mittelfrequenzströmen, isometrischen Spannungs- und aktiven Bewegungsübungen nach Meniskotomie.
Beitr.Orthop.u.Traumatol. 26,380-385 (1979)
- 51.) Krause,W. Die Anatomie des Kaninchens.
Engelmann, Leipzig 1884
- 52.) Kugelberg,E.
Edström,L. Differential histochemical effects of muscle contractions on phosphorylase and glycogen in various types of fibres: relation to fatigue.
J.Neurol.Neurosurg.Psychiat. 31,415-423 (1968)
- 53.) Lee,J.C.Y. Vascular patterns in the red and white muscles of the rabbit.
Anat.Rec. 132,597-611 (1958)
- 54.) Lömo,T.
Wesgaard,R.H.
Dahl,H.A. Contractile properties of muscle: Control by pattern of muscle activity in the rat.
Proc.R.Soc.Lond.Biol. 187,99-103 (1974)
- 55.) Lömo,T. The role of activity in the control of membrane and contractile properties of skeletal muscles.
In:Motorinnervation of skeletal muscle (S. Thesleff,ed.) pp. 289-321.London: Academic Press 1976
- 56.) Magyarosy,I.
Beer,G.
Pongratz,D.
Schnizer,W.
Drexel,H. Tierexperimentelle Befunde zur Elektrophotherapie bei Immobilisationsatrophie.
Z.f.Phys.Med. Nr.2,141-144 (1980)
- 57.) Maier,A.
Eldred,E.
Edgerton,V.R. The effects on spindles of muscle atrophy and hypertrophy.
Exp.Neurol. 37,100-123 (1972)
- 58.) Maier,A.
Crockett,J.L.
Simpson,D.R.
Saubert,C.W.
Edgerton,V.R. Properties of immobilized guinea pig hindlimb muscles.
Am.J.Physiol. 231,1520-1526 (1976)

- 59.) Mann, W.S.
Salafsky, B. Enzymatic and physiological studies on normal and disused developing fast and slow cat muscles.
J.Physiol. 208,33. (1970)
- 60.) Melichna, J.
Gutmann, E. Stimulation and immobilisation effects on contractile and histochemical properties of denervated muscle.
Pflügers Arch. 352,165-178 (1974)
- 61.) Meyer, E. Über rote und blasse quergestreifte Muskeln.
Anat.Physiol.wiss.Med., 217-232, Leipzig (1875)
- 62.) Moog, F.
Steinbach, H.B. Notes on the possibility of a histochemical method for localizing adenosine-triphosphatase.
Science 103,144 (1946)
- 63.) Myrhage, R. Microvascular supply of skeletal muscle fibres.
Acta Orthopaedica Scandinavica, Suppl.Nr. 168
- 64.) Myrhage, R. Capillary supply of the muscle fibre population in hindlimb muscles of the cat.
Acta physiol. scand. 103,19-30 (1978)
- 65.) Nishiyama, A. Histochemical studies on the red, white and intermediate muscle fibres of some skeletal muscles. The capillary distribution on three types of some skeletal muscles.
Acta Med.Okayama 19,191-198 (1965)
- 66.) Ogata, T.
Mori, M. Histochemical studies of oxidative enzymes in vertebrate muscles.
J.Histochem.Cytochem. 12,171-182 (1964)
- 67.) Olson, C.B.
Swett, C.F. A functional and histochemical characterization of motor units in a heterogeneous muscle of the cat.
J.Comp.Neurol. 128,475-498 (1966)
- 68.) Padykula, H.A.
Herman, E. The specificity of the histochemical method for adenosine triphosphatase
J.Histochem.Cytochem. 3,170-183 (1955)
- 69.) Peter, J.B.
Barnard, R.J.
Edgerton, V.R.
Gillespie, C.A.
Stempel, K.E. Metabolic profiles of three fibre types of skeletal muscle in guinea pigs and rabbits.
Biochemistry 11,2617-2633 (1972)
- 70.) Pette, D.
Ramirez, B.U.
Müller, W.
Simon, R.
Exner, G.U. Influence of intermittent long-term stimulation on contractile, histochemical and metabolic properties of fibre populations in fast and slow rabbit muscles.
Pflügers Arch. 361,1-7 (1975)
- 71.) Flyley, M.J.
Groom, A.C. Geometrical distribution of capillaries in mammalian striated muscle.
Am.J.Physiol. 228(5),1376-1383 (1975)
- 72.) Ranvier, L. Propriétés et structures différentes des muscles rouges et des muscles blancs, chez les Lapins et chez les Raies.
Paris 1873

- 73.) Ranvier, L. Note sur les vaisseaux sanguine et la circulation dans les muscles rouges. Arch. Physiol. norm. pathol. 6, 446-450 (1874)
- 74.) Richterich, R. Der histochemische Nachweis der alkalischen Phosphatase. Acta anat. (Basel) 15, 243-258 (1952)
- 75.) Romanul, F.C.A. Enzymes in muscle. Histochemical studies of enzymes in individual muscle fibers. Arch. Neurol. 11, 355-368 (1964)
- 76.) Romanul, F.C.A. Capillary supply and metabolism of muscle fibers. Arch. Neurol. 12, 497-509 (1965)
- 77.) Rosemeyer, B. Stürz, H. Musculus quadriceps femoris bei Immobilisation und Remobilisation. Z. Orthop. 115, 182-188 (1977)
- 78.) Sachs, L. Statistische Auswertungsmethoden. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York (1972)
- 79.) Salmons, S. Vrbova, G. The influence of activity on some contractile characteristics of mammalian fast and slow muscles. J. Physiol. (London) 210, 535-549 (1969)
- 80.) Sargeant, A.J. Functional and structural changes after disuse of human muscles. Davies, C.T.M. Edwards, R.H.T. Clin. Sci. Mol. Med. 52, 337-342 (1977)
- 81.) Schafer, E. Essentials of histology, ed. H.M. Carleton 14th Ed., pp. 142-158. Longmans, Green & Co., London-New York-Toronto 1947
- 82.) Schmidt, R.F. Thews, G. Einführung in die Physiologie des Menschen. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York (1976)
- 83.) Schnizer, W. Manert, W. Kleinschmidt, J. Untersuchung zur Frage der transkutanen Wirkung des elektrischen Stromes auf das periphere Gefäßsystem des Menschen. Magyarosy, I. Z. f. Phys. Med. Nr. 4, 238-244 (1980)
- 84.) Drexel, H. Dirnagl, K. Siegenthaler, W. Klinische Pathophysiologie Thieme Verlag Stuttgart 1976
- 85.) Sillau, A.H. Banchemo, N. Visualization of capillaries in skeletal muscle by the ATPase Reaction. Pflügers Arch. 369, 269-271 (1977)
- 86.) Solandt, D.Y. Delury, D.B. Hunter, J. Effect of electrical stimulation on atrophy of denervated skeletal muscle. Arch. Neurol. Psychiat. 49, 802-807 (1943)
- 87.) Stein, J.M. Padykula, H.A. Histochemical classification of individual skeletal muscle fibres of the rat. Amer. J. Anat. 110, 103-124 (1962)

- 88.) Stingl, J. Arrangement of the vascular bed in the skeletal muscles of the rabbit.
Folia morph. 17, 257-265 (1969)
- 89.) Stoel, G. Über die Blutversorgung von weißen und roten Kaninchenmuskeln.
Z. Zellforsch. 3, 91-98 (1925)
- 90.) Summers, T. B. Effect of immobilization in various positions upon the weight and strength of skeletal muscle.
Hines, H. M. Arch. Phys. Med. 32, 142 (1951)
- 91.) Szöör, A. Experimental investigations on hypokinesia of skeletal muscles with different functions.
Boross, G. Changes in muscle weight, protein and contractile properties.
Hollósi, T. Acta biol. Acad. Sci. hung. 28(2), 195-204 (1977)
Szilágyi, T.
Kesztyüs, L.
- 92.) Tabary, J. C. Physiological and structural changes in the cat's soleus muscle due to immobilization at different lengths by plaster casts.
Tabary, C. J. Physiol. 224, 231 (1972)
Tardieu, C.
Tardieu, G.
Goldspink, G.
- 93.) Tomanek, R. J. Degeneration of different types of skeletal muscle fibres. II. Immobilization.
Lund, D. D. J. Anat. 118, 409 (1974)
- 94.) Wakim, K. G. The influence of electrical stimulation on the work output and endurance of denervated muscle.
Krusen, F. H. Arch. Phys. Med. 36, 370-376 (1955)

8. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich Herrn Prof. Dr. med. H. Drexel, Vorstand des Instituts für Medizinische Balneologie und Klimatologie der Universität München, und Herrn Prof. Dr. med. W. Schnizer für die Überlassung des Themas, für die stets freundliche Unterstützung und die wertvollen Anregungen bei der Anfertigung der Arbeit meinen besonderen Dank aussprechen.

Ganz herzlich danke ich Herrn Dr. med. Istvan Magyarosy, der mir bei der Durchführung und Auswertung der Versuche immer mit sehr guten Ratschlägen zur Seite stand.

Mein Dank gilt auch Herrn Dr. rer. physiol. Dipl. Phys. J. Kleinschmidt für die zahlreichen Hinweise bei der statistischen Ausarbeitung der Meßergebnisse.

Herrn Dr. T. Witt aus der Neurologischen Klinik im Klinikum Großhadern der Universität München (Direktor: Prof. Dr. med. A. Schrader) möchte ich für die Überlassung des Arbeitsplatzes im histochemischen Labor und für die stets freundliche Hilfe beim Lösen technischer und methodischer Probleme danken.

Abschließend gilt mein Dank ganz besonders Fräulein F. Anneser für ihre außerordentliche Hilfsbereitschaft, die mir die Anfertigung der histochemischen Färbungen sehr erleichterte.

9. Lebenslauf

Am 8.5.1955 wurde ich als Sohn des KFZ - Mechanikermeisters Josef Stechele und dessen Frau Gertraud, geb. Pölzl, in Landsberg/Lech geboren.

Ich wuchs in Penzing auf und besuchte dort von 1961 - 1966 die Volksschule. Nach der 5. Klasse wechselte ich an das Dominikus-Zimmermann-Gymnasium in Landsberg/Lech über, wo ich 1975 das Abitur machte.

Von Juli 1975 bis Mai 1976 leistete ich Wehrdienst.

Im Sommersemester 1976 begann ich an der Ludwig-Maximilians-Universität München das Studium der Humanmedizin, welches ich 1982 mit dem Staatsexamen abschloß.

